



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA
INDUSTRIAL

Primera fase de Optimización de Variables de control del
solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción
de Stevia (*Stevia-rebaudiana*-Bertoni)

Tesis para optar el título Profesional de:
Ingeniero Industrial

Autor:

Cintia Estrada Mayorga

Asesor:


Dr. Javier Francisco Panta Salazar

Línea de Investigación:

Gestión Empresarial y Productiva

Lima – Perú

2018-II

| | | |
|--|---------------------------------------|---|
|  UCV UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO | ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS | Código : R07-PP-FR-02-02 Versión : 09 Fecha : 23-03-2018 Página : 1 de 1 |
|--|---------------------------------------|---|

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don(a) Cintia Estrada Mayorga, cuyo título es: "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)"

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: 18 dieciocho.

Lima, San Juan de Lurigancho, **20 de Diciembre del 2018**

.....
Dr. Robert Julio Contreras Rivera
 PRESIDENTE

.....
Dr. Javier Francisco Panto Salazar
 SECRETARIO

.....
Mg. Pacherez Acaro, Pedro
 VOCAL

| | | | | | |
|---|---|---------|---|---|--|
|  Elaboró: |  Dirección de Investigación | Revisó: |  Rector Académico del UCV |  Aplica: |  Vicerrectorado de Investigación |
|---|---|---------|---|---|--|

DEDICATORIA

Esta Tesis se la dedico a mi Madre, Zoila,
quien con su paciencia, supo apoyarme
en el transcurso de la vida universitaria y
hoy muestro este trabajo como
mi carta pase ante la sociedad, y con orgullo puedo decir
que fue difícil pero lo logre.

Asi mismo a mis hermanos,
quienes nunca dejaron de creer en mi
y siempre estuvieron prestos a apoyarme
en todo momento,
pero en especial a mi hija Itzell,
quien es el mi mayor motivo de superación
y si hoy pretendo ser alguien es gracias a ella.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad César Vallejo por formarme integralmente a lo largo del desarrollo académico de mi carrera, a los docentes que con su experiencia contribuyeron al fortalecimiento de mis competencias como Ingeniero y de manera muy especial a mis asesores los Ingenieros Mg. Robertos Carlos Conde Valle Y Dr. Javier Francisco Panta . Por otro lado también demuestro mi particular deferencia con el Ing. Sabino y Ing. Alejandro Suarez quienes con sus consejos y experiencia lograron cambios en mis ideales por la investigacion así mismo a la Universidad Nacional Agraria La Molina donde logré expandir este hábito de investigación.



DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo Cintia Estrada Mayorga con DNI N° 48273933, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Industrial, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Lima, 23 de julio del 2019

Cintia Estrada Mayorga

DNI: 48273933

Fecha: 23/07/2019



PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado, presento ante ustedes la Tesis titulada “Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)”, con la finalidad Determinar la influencia entre las Variables Físicas del Proceso de Extracción de hoja de Estevia, en cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para obtener el Título Profesional de Ingeniero Industrial.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

Lima, 23 de julio del 2019

.....
Cintia Estrada Mayorga

DNI: 48273933

Fecha: 23/07/2019

Índice general

| | |
|--|------|
| Acta de aprobación de tesis..... | II |
| Dedicatoria..... | III |
| Agradecimiento..... | IV |
| Declaración de Autenticidad..... | V |
| Presentación..... | VI |
| Resumen..... | XII |
| Abstrac..... | XIII |
| INTRODUCCION | |
| Realidad Problemática | 15 |
| 1.2 Antecedentes..... | 18 |
| 1.2.1 Antecedentes Nacionales..... | 18 |
| 1.2.2 Antecedentes Internacionales..... | 18 |
| 1.3 Justificación..... | 21 |
| 1.3.1 Justificación del estudio..... | 21 |
| 1.3.2 Justificación teórica..... | 22 |
| 1.3.3 Justificación metodológica..... | 22 |
| 1.3.4 Justificación tecnológica..... | 23 |
| 1.3.5 Justificación económica..... | 23 |
| 1.4 Marco Teórico..... | 24 |
| 1.4.1 Tecnología de fluidos Supercríticos..... | 24 |
| 1.4.2 CO2 supercrítico..... | 25 |
| 1.4.3 Control de las variables en procesos industriales..... | 27 |
| 1.4.3.1 Temperatura y Presión Supercrítica..... | 27 |
| 1.4.4 Proceso de Extracción Supercrítica..... | 28 |
| 1.4.5 Técnicas de optimización o superficie respuesta..... | 29 |
| 1.4.6 Espectroscopia de estevia | 29 |
| 1.4.7 Estructura química de la estevia..... | 30 |
| 1.4.8 Extracción Orgánica..... | 31 |
| 1.4.9 Análisis de varianza..... | 31 |
| 1.5 Problema..... | 33 |
| 1.5.1 Problema General..... | 33 |
| 1.5.2 Problema Especifico 1..... | 33 |
| 1.5.3 Problema Especifico 2..... | 33 |
| 1.6 Hipótesis..... | 33 |
| 1.6.1 Hipótesis general..... | 33 |
| 1.6.2 Hipótesis Especifica 1..... | 33 |
| 1.6.3 Hipótesis Especifica 2..... | 33 |
| 1.7 Objetivos..... | 34 |
| 1.7.1 Objetivo General..... | 34 |
| 1.7.2 Objetivo Especifico 1..... | 34 |
| 1.7.3 Objetivo Especifico 2..... | 34 |
| 2.1 Diseño Experimental..... | 36 |
| 2.2 Metodología..... | 37 |
| 2.2.1 Extracción de hoja de estevia..... | 37 |

| | |
|---|----|
| 2.2.1.1 Materiales..... | 37 |
| 2.1.1.2 Materia prima..... | 37 |
| 2.1.1.3 Descripción del dispositivo de extracción..... | 37 |
| 2.2.1.4 Procedimiento para ejecutar la extracción de hoja de estevia..... | 38 |
| 2.2.2 Caracterización del extracto de estevia, Análisis Físico-Químico..... | 38 |
| 2.2.2.1 Preparación del estándar de estevia..... | 38 |
| 2.2.2.2 Materiales..... | 38 |
| 2.2.2.3 Procedimiento de preparación del Estándar de estevia..... | 38 |
| 2.2.3 Preparación de muestra..... | 39 |
| 2.2.4 Lectura de la absorbancia del estándar y muestras..... | 40 |
| 2.2.4.1 Materiales..... | 40 |
| 2.2.4.2 Lectura para hallar la curva de calibración. | 40 |
| 2.2.4.3 Caracterización del extracto de estevia, Análisis Físico-Químico..... | 41 |
| 2.2.5 Medición de la viscosidad..... | 42 |
| 2.2.5.1 Materiales..... | 42 |
| 2.2.5.2 Procedimiento para la lectura de viscosidad..... | 42 |
| 2.3 Tipos de estudio..... | 42 |
| 2.4 Población, muestra y muestreo..... | 43 |
| 2.4.1 Población..... | 43 |
| 2.4.2 Muestra..... | 43 |
| 2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 43 |
| 2.6 Métodos de análisis de datos..... | 43 |
| 2.7 Aspectos éticos..... | 46 |
| III RESULTADOS..... | 48 |
| IV DISCUSIÓN..... | 50 |
| V CONCLUSIONES..... | 53 |
| VI RECOMENDACIONES..... | 55 |
| REFERENCIAS | |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Principales solventes Fsc usados por las industrias..... | 27 |
| Tabla 2. Resumen del ANOVA..... | 31 |
| Tabla 3. Resumen de los experimentos en función al T° y t..... | 36 |
| Tabla 4. Validación de la hipótesis basada en el análisis de varianza..... | 43 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Representación del Diagrama de Fases General..... | 24 |
| Figura 2. Diagrama de fases del CO2 supercrítico..... | 25 |
| Figura 3. Extracción supercrítica Continua..... | 28 |
| Figura 4. Diagrama absorvancia Vs longitud de onda, estevia..... | 30 |
| Figura 5. La figura muestra la estructura química de la estevia..... | 30 |
| Figura 6. Representación grafica T° y t, experimento..... | 36 |
| Figura 7. Representación grafica 3D, sotware Mathcad Prime..... | 45 |
| Figura 8. Representación grafica 2D, sotware Mathcad Prime..... | 45 |
| Figura 9. Representación del factor fisher y el valor crítico..... | 46 |

Resumen

Los procesos de extracción supercrítico resultan de extrema importancia en procesos industriales, ya que permiten aislar componentes valiosos, con puresas que no son posibles de obtener con solventes convencionales.

Las condiciones críticas permiten usar fluidos con viscosidades y densidades intermedias y solventes no polares y las sustancias a obtener tienen mucha afinidad a la no polaridad, por lo cual se distribuye bastante bien en los fluidos supercríticos de acuerdo al dispositivo de extracción.

En este proyecto propone usar CO₂ como solvente, en sus condiciones cercanas a las supercríticas, para extraer estevia en un proceso no continuo donde las variables a manipular, factores, son la temperatura y el tiempo; resaltar que ambas son evaluadas a dos niveles, el resultado de este proyecto permitirá encontrar un modelo matemático que forme la base para la optimización del proceso, se espera alcanzar una extracción de estevia del 30%, sin llegar a las condiciones supercríticas del fluido como medio solvente para la extracción y en su análisis; el espectroscopio UV/VIS y Viscosímetro.

Así mismo plantea desarrollar procesos batch los cuales ayudan a simular procesos unitarios como también involucran la reacción durante un proceso y la salida del producto.

Así mismo dicho proyecto desarrolla el diseño factorial de dos factores, el cuál tras los resultados obtenidos, serán evaluados en función al estadístico de Fisher-ANOVA, y lograr así la aprobación o negación de la hipótesis planteada.

Palabras clave: Procesos batch, extracción de estevia, temperatura, presión y tiempo.

Abstrac

The processes of supercritical extraction are extremely important in industrial processes because they allow the isolation of valuable components, with purities that are not possible to obtain with conventional solvents.

Critical conditions allow the use of fluids with intermediate viscosities and densities and non-polar solvents and the substances to be subjected have a great affinity to non-polarity, which is why it is distributed fairly well in supercritical fluids.

In this project he proposes to use CO₂ as a solvent, in its conditions close to the supercritical, to extract stevia in a non-continuous process where the variables to be manipulated, factors, are temperature and time; highlight that both are evaluated at two levels, the result of this project will allow finding a mathematical model that forms the basis for the optimization of the process, it is expected to achieve a stevia extraction of 30%, without reaching the supercritical conditions of the fluid as a medium solvent for extraction.

It also proposes to develop batch processes which help to simulate unit processes as well as involve the reaction during a process and the output of the product.

Likewise, said project develops the factorial design of two factors, which after the results obtained will be evaluated according to Fisher's statistic, and thus achieve the approval and denial of the proposed hypothesis.

Keywords: Batch processes, stevia extraction, temperature, pressure and time.

I INTRODUCCIÓN

1.1.Realidad Problemática

En la actualidad el Reino Unido es uno de los países con mayor índice de obesidad, sobrepeso infantil en función al consumo de azúcar, es por ello que el 6 de Abril del presente año se aplica el impuesto a las bebidas azucaradas el cual según el portal de Ecuvisa (2018), hacen mención a lo siguiente:

Para las bebidas que contengan entre 5 y 8 gramos de azúcar por cada 100 mililitros, el gobierno impone a partir de ahora un impuesto de 8 peniques por litro. La tasa asciende a 24 peniques por litro para las bebidas que contienen más de 8 gramos de azúcar por 100 ml. (π.4)

Lo cual en moneda peruana representa 1 penique (Pence esterlina, GBX) a 0.04 nuevos soles, es decir si 8 peniques representa a 0.34 nuevos soles, siendo este el impuesto selectivo ahora pasara a ser 1.03 nuevos soles lo cual representa 200% mas de lo que habitualmente se tributaba.

Cabe resaltar que dicho impuesto se rige a que un tercio de la población adolescente se encuentra con los problemas antes mencionados, es por ello que se solicita que los fabricantes de bebidas azucaradas en general modifiquen sus recetas y reduzcan la cantidad de azúcares en sus bebidas.

Así mismo mediante La Tercera. Cecilia Yáñez, (2018), informó:

El Impuesto Adicional a las Bebidas Azucaradas (Iaba) aumentó de 13 a 18% el importe en las bebidas con una concentración de azúcar agregada de 6,25 gramos por 100 ml o más y rebajó de 13 a 10% a las que tenían una concentración menor. (π.11)

La cual tuvo repercusión en la actualidad ya que hoy en día se ha disminuido en 21% el consumo de bebidas azucaradas, de esta manera la población chilena muestra preferencia por el agua embotellada.

Cabe resaltar que mediante esta medida se ha dado a reflejar que en la actualidad no existe país que mantenga el impuesto selectivo por consumo de azúcar por debajo del 17% el cual representaba hasta el año pasado a nuestro país.

Frente a esta realidad el presente trabajo de investigación sugiere como alternativa el uso de la Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni). Es así que los especialistas del GLOBAL STEVIA INSTITUTE (2017) indicaron:

Como producto de la naturaleza, la planta stevia en realidad es bastante compleja. Sus hojas contienen distintos componentes de sabor dulce, denominados científicamente glicósidos de esteviol. Existen muchos tipos diferentes de glicósidos de esteviol, pero 11 de ellos son los más abundantes en una hoja típica. Cada uno de estos glicósidos de esteviol tiene un perfil de sabor y una intensidad de dulzura particulares, y cada uno puede ser entre 200 y 350 veces más dulce que el azúcar, pero sin aportar calorías. (π.1)

Por lo tanto, dicho Instituto manifiesta la existencia de los glucósidos de esteviol, perfilando a este como la causa para el sabor dulce en las hojas de estevia, incluso, cabe resaltar la importancia que esta tiene en su consumo ya que no emite calorías durante su ingesta, así como la sensación de dulzura la cual es significativamente mayor en función al azúcar.

Martínez (2015) explicó:

La stevia [...] es una especie del género *Stevia* de la familia de las Asteráceas nativa de la región tropical de Sudamérica; se encuentra aún en estado silvestre en el Paraguay, especialmente en el Departamento de Amambay y en la provincia argentina de Misiones, pero desde hace varias décadas se cultiva por sus propiedades edulcorantes y su ínfimo contenido calórico. El primer informe de cultivo comercial en Paraguay fue en 1964. Desde entonces, ha sido introducida como un cultivo en un número de países como Brasil, Corea, México, Estados Unidos, Indonesia, Tanzania y Canadá desde 1990. En la actualidad su producción está centrada en China y el principal mercado está en Japón. (p. 5)

Se puede aseverar entonces que la investigación nos muestra básicamente tanto la parte comercial desde los inicios de la estevia hasta la actualidad, así mismo resaltar que según la investigación la estevia tiene como origen Paraguay.

Dicha planta fue llamada ka'a he'ẽ o hierba dulce en su traducción al castellano, por los antiguos guaraníes.

El Perú en la actualidad se muestra en transición en función al consumo de azúcares y/o bebidas azucaradas, como claro ejemplo de ello podemos hacer mención a la modificatoria de norma legal peruana, emitido el 9 de mayo del presente, en la cuál hace mención al aumento de tributos para bebidas azucaradas en específico si estas cuentan con una concentración mayor a 6g/100ml, del 17 al 25%. Frente a ello las Industrias de Bebidas en general, deberán buscar alternativas para la producción de sus bebidas, es decir un producto alternativo para endulzar la misma, en función a la modificatoria (DS N° 091, 2018, art.1).

Ahora tras la problemática nacional podemos resaltar que de algún modo dirige a nuestro país al consumo de alimentos con menor concentración de azúcares, por ende mejorar la calidad de vida, ya que evita la ingesta de carbohidratos así como también el consumo excesivo de alimentos con aditivos químicos, es considerable hacer mención dicho Decreto Supremo antes mencionad por nuestra legislación inclina, a las industrias a mejorar y buscar alternativas tecnológicas, como de productos para poder marcar un nicho de producción y mercado. Es así que se plantea la búsqueda de nuevos procesos los cuales logren la extracción de este endulcorante natural, la stevia por medio de procesos no necesariamente sofisticados pero que a gran escala puedan repercutir en la industria, como también aplicando la nuevas tecnologías, como es de la tecnología de fluidos supercríticos o al menos lograr la mayor extracción a condiciones cercanas a las críticas.

Cabe resaltar que dicho Proceso se encuentra en desarrollo total en países de tecnología avanzada, como por ejemplo países europeos los cuales adoptaron este proceso como parte de la mejora para contribuir con el cambio climático, así mismo es sostenible.

Si bien es cierto en el Perú tenemos la ventaja de contar con microclimas los cuales pueden producir dicha planta en mayor proporción de hasta 7 cosechas al año, por lo tanto obtener con la materia prima mayor extracto.

Frente a dicha tecnología se puede hacer referencia a que es la separación del material soluble a partir de un residuo sólido o líquido, gracias a un disolvente o Fsc. Bolufer (2016), indicó: “La extracción supone la separación de porciones medicamente activas de una planta o tejido animal, a partir de componentes inactivos e inertes usando disolventes” (p. 28). También podemos hacer mención que dicha tecnología es desarrollada al máximo en los países europeos ya que esta viene siendo tecnología amigable con el medio ambiente por ende sostenible, así como también sintetiza proceso u operaciones.

Considerando que dicho proceso ya aplica a nivel laboratorio en nuestro país, como por ejemplo en la Pontifice Universidad Católica del Perú la cual tiene 10 años desde la investigación y ahora con el uso del equipo Extractor con Fluidos en condiciones Supercríticas, el cual comprende de un proceso continuo.

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes Nacionales

GALARZA (2011), mediante su tesis “Obtención de un extracto concentrado de Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)”. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Dicha investigación tuvo como objetivo obtener concentrado a partir de hojas de Stevia, “Stevia Rebaudiana Bertoni”, para la cual se realizó análisis fisicoquímico y sensorial mediante métodos de extracción acuosa, hidroalcohólica y alcohólica para los cuales se manejaron aditivos como carbonato de calcio, hidróxido de calcio y cloruro de calcio todo sobre la materia seca luego se le agrego carbón activado en función a su volumen obteniendo características organolépticas no aceptables, es por ello que el investigador optó por realizar métodos físicos sin perder su estado y propiedades iniciales, para la cual fueron sometidas a un tratamiento de vapor en un determinado tiempo y presión de esta manera se logró eliminar los aceites esenciales, desnaturalizar la clorofila y compuestos orgánicos que influyen en el sabor. Pero una vez que se manipuló tiempo, temperatura y presión se logró obtener los °Brix adecuados, viscosidad, pH y densidad, así como la aceptabilidad de una de las muestras mediante el Análisis Sensorial.

1.2.2 Antecedentes Internacionales

BETANCUR, *et al*, (2017), desarrollaron la tesis titulada “Extracción de glucósidos edulcorantes de Stevia rebaudiana bertoni por métodos de fluidos supercríticos”. Tesis para obtener título de doctorado. Dicha investigación tuvo como objetivo: Evaluar el método de extracción con dióxido de carbono supercrítico con y sin la adición de cosolvente al sistema (mezcla agua:etanol); para la obtención de los glicósidos mayoritarios a partir de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni. Así mismo desarrollo el siguiente método: Para la extracción supercrítica se utilizó un equipo modelo SFT-150 SFE/SFR con CO₂ como fluido. Las variables estudiadas fueron la temperatura, presión, el tiempo de extracción y la presencia o ausencia del cosolvente (mezcla agua-etanol en una concentración 70:30 v/v), incorporado en diferentes proporciones para determinar el efecto sobre el rendimiento. La cantidad de glucósidos edulcorantes se analizaron por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Tras la experimentación se obtuvo el siguiente resultado, la presión fue el factor que favoreció

la extracción, la cual fue selectiva en la obtención del Rebaudiósido A con rendimientos no mayores que 2%. La inclusión del cosolvente consiguió un aumento en el rendimiento hasta valores de 2.9 %. Por ultimo llego a la siguiente conclusión, el CO₂ supercrítico de manera individual y mezclado con etanol-agua como cosolvente no fue eficiente para extraer los esteviosidos edulcorantes de Stevia rebaudiana.

LUTENZKO, *et al*, (2016) desarrollaron la tesis titulada “Determination of the total content of diterpene glycosides in Stevia rebaudiana plant by the method of direct potentiometry”. Tesis de maestría. Hemos investigado la reacción de los glucósidos de diterpeno esteviol con heteropolianión de la estructura de Keggin de ácido 12-molibdofosfórico por espectroscopía UV e IR. Se confirmó la naturaleza asociativa de la interacción. El asociado ligeramente soluble resultante se usó como sustancia activa de electrodo en membranas plastificadas de electrodos selectivos de iones sensibles a los glucósidos de esteviol. La nueva película desarrollada de electrodos selectivos de iones, al ser sensible al esteviósido, tiene características de electrodo satisfactorias. Se proponen para la determinación cuantitativa de glucósidos de esteviol en extractos, productos alimenticios y cosméticos mediante potenciometría directa. Se ha desarrollado un método para la determinación cuantitativa de glucósidos de esteviol de diterpeno en extractos y producción industrial mediante potenciometría directa. El método desarrollado cumple con todos los requisitos del análisis moderno: es simple, rápido, seguro y asequible. Tiene suficiente selectividad, precisión y sensibilidad.

Así mismo en la segunda parte de su investigación, ARAMENDIZ, JARMA Y ROBLES (2011), desarrollaron la tesis titulada “Estabilidad fenotípica de genotipos y población de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) En el Caribe colombiano”. El cuál tuvo como objetivo determinar la estabilidad fenotípica de dos genotipos de estevia, (Morita1 y Morita 2) y de tres poblaciones (25; 12,5; y 6,25 plantas/m²), en tres épocas de siembra en el Caribe Húmedo colombiano. Para ello se utilizó criterios de estabilidad fenotípica propuestos por Lin y Binns (1988) y Carneiro (1998). Tras la investigación que se llevo a cabo, el resultado más importante fue en la que se indica que Morita 2, en poblaciones de 25 plantas/m², es así que se logra registrar los mejores índices de estabilidad para el rendimiento de hoja seca/hectárea, así mismo presentó un genotipo de relación hoja /tallo como mayor contenido de glucósidos totales.

Por último la investigación fue desarrollada por ALARCON, CARDONA y OROZCO (2010), “Temperaturas y radiación en la producción de glucósidos en Stevia rebaudiana en el Caribe Húmedo colombiano”, la cual tuvo por objetivo determinar el efecto de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) y las temperaturas máximas (Tmax) y mínimas (Tmin), en función a los principales glucósidos (GT) con los genotipos M1 y M2. Para su desarrollo se efectuó el diseño experimental factorial de 3 (épocas) x 2 (genotipos) con 12 repeticiones bajo un diseño experimental completo al azar. Tras el experimento se obtuvo los siguientes resultados, en función al genotipo, estos variaron de acuerdo a la época de siembra; los efectos de la FRA y las temperaturas nos indicaron que si hay correlación positiva ($p \leq 0.05$) entre estos y la síntesis de GT para M1, A diferencia de M2 la cual si logro influir en la concentración GT, pero no en las temperaturas. Para determinar si se logró un aumento de concentración de GT se evaluó el aumento de steviósido (St) pero no de rebaudiósido (RebA).

DEL VAL Y SOTO (2002), a través de su trabajo de investigación “Extracción de los Principios Edulcorantes de la Stevia rebaudiana”, desarrollado en la Universidad de Buenos Aires. El Objetivo de la investigación fue el de evaluar los métodos para aislar los glicósidos causantes del sabor dulce de las hojas de Stevia rebaudiana con la intención final de hallar un proceso económicamente conveniente que pudiera ser implementado a escala industrial. Ante el cual se aplicó la metodología experimental descriptiva, obteniendo resultados en función al rendimiento de un 5% de glicósidos sobre la base del peso de hojas secas, para el cual se usó el alcohol etílico como solvente, siendo un proceso sin complejidad.

GIRALDO, HABEYCH y MARIN (2005), quienes desarrollaron la siguiente investigación titulada “Obtención de Edulcorantes de Stevia Rebaudiana Bertoni” de la Universidad EAFIT en Colombia, la cual tuvo como finalidad evaluar los diversos métodos de extracción y purificación para la obtención de glicósidos en forma de cristales, así mismo que cumplan con buenas características organolépticas. Se pudo observar que durante el desarrollo de la investigación se aplicaron operaciones unitarias como desengrase del material vegetal, lixiviación con diferentes solventes, precipitación con diversas sales y variación de pH, filtración con membranas (UF) y procesos de adsorción. De este modo poder evidenciar la presencia de los glicósidos

en cada una de las etapas de esta manera se logró identificar mediante técnicas de análisis colorimétrico indirecto (Método DNS), espectroscópico (IR) y cromatográfico (TLC, HPLC). Tras los diseños aplicados, se observaron las etapas críticas de purificación, así como también se descartó las operaciones de baja eficiencia, así como también se ejecutó e identificó el proceso viable para la obtención de una mezcla de edulcorantes las cuales resulten un producto de color blanco, de sabor intenso que perdure en la boca e inodoro. Por lo tanto, los resultados con estas especificaciones tienden a que la mayor proporción del presente producto ha de ser el rebaudiósido A.

DORADO, HURTADO y MARTINEZ (2017), quienes sustentaron la tesis titulada “Extracción Supercrítica de Aceite de semillas de papaya (Carica papaya): Composición y Propiedades Fisicoquímicas”, en la Universidad de Antioquia. Cuyo objetivo fue realizar la extracción de aceite de semilla de papaya con dióxido de carbono supercrítico bajo diferentes condiciones de presión y temperatura con el fin de evaluar su efecto sobre el rendimiento, composición en ácidos grasos, esteroides y tocoferoles. Así mismo determinar las propiedades fisicoquímicas presentes según parámetros de calidad en el aceite. El cual se desarrolló mediante el diseño experimental central utilizando la metodología de superficie de respuesta. Durante el experimento se trabajó con temperaturas entre 40 y 60 °C y presión con rangos de 20 y 35 MPa, así mismo se detalló el flujo de CO₂ constante de 30g/min y un tiempo de extracción de 150 min. Ante el desarrollo de la experimentación se obtuvo resultados en función a la presión, temperatura y sus interacciones con efectos estadísticos significativos ($p \leq 0.05$) sobre el rendimiento (26.3%) para el cual se llevó a 38.1 MPa y 36°C. dicho aceite obtuvo un alto contenido en ácido oleico y en menor proporción los ácidos grasos: palmítico, linoleico, esteárico, palmitoleico, láurico, linolénico y mirístico. Así mismo se identificaron componentes en menor proporción como: campesterol, estigmasterol, cicloartenol, sitostenona, escualeno, β -sitosterol y α -tocoferol. Por lo tanto, dicho proceso permitió un alto rendimiento en cuanto a aceite de semilla de papaya y una extracción selectiva en ácidos grasos y escualeno, lo cual puede ser de interés para diversas industrias.

1.3 Justificación

1.3.1 Justificación del estudio

Dicho estudio se lleva a cabo, ya que se requiere conocer de mejores procesos que ayuden a obtener alto rendimiento del extracto de Estevia ya que de esta manera se logrará mayor conocimiento sobre el consumo de dicho producto, así como también los beneficios que conlleva, cabe resaltar que en la actualidad existen investigaciones las cuales hacen mención a cómo actúa la estevia en nuestro organismo en comparación al azúcar. Es así que en la investigación titulada *Metabolism of Stevia rebaudiana Sweeteners by Human Microflora*, Cansi (2003), indicó:

[...] la microflora intestinal humana no fue capaz de degradar el steviol. Además, el esteviosido y rebaudiosido A no influyeron significativamente en la composición de las culturas fecales; entre los grupos intestinales seleccionados, los bacteroides fueron los más eficientes en la hidrolización de edulcorantes de Stevia al steviol.

Ello nos da a entender que mediante el experimento el investigador básicamente logró verificar que los steviósidos no logran alojarse en el organismo en comparación del azúcar, sino que más bien, estos ingresar al intestino simplemente son absorbidos por la microflora intestinal por ende se eliminan del organismo. Frente a esta investigación se puede aseverar que al no alojarse en el organismo no se generan cambios metabólicos. Como el aumento de peso corporal por el consumo de este aditivo alimentario que si se puede sustituir por el azúcar.

1.3.2 Justificación teórica

Parte de la justificación teórica se basa en la investigación de Bolufer (2016), indicó: “Extracción Supercrítica es un proceso de extracción más rápido y selectivo, que en el caso de la extracción líquido-líquido. La química verde nos permite suprimir los disolventes orgánicos.” (p. 29). Así mismo podemos afirmar que la química verde hace referencia a los alimentos o tejido vegetal dicho en otros términos es decir este proceso trabaja mejor con los ya mencionados es por ello que en este caso se optó por elegir al producto por procesar el cual sería la Stevia rebaudiana.

1.3.3 Justificación metodológica

Las prácticas en procesos industriales se enfrentan a problemas cotidianamente, debido a la no estabilidad de los parámetros de control. Esto indica que parte de los procesos no se encuentran en condiciones óptimas, las condiciones óptimas se caracterizan por ubicar un punto estacionario alrededor del cual la variable dependiente no sufre cambio significativo. En estas condiciones se dice que los procesos operan de forma

robusta y confiable. Los procesos de optimización tienen tres fases y resultan de respuesta rápida, ya que se usa diseños factoriales en las cuales evalúan los parámetros de control a diverso niveles para obtener respuesta de la variable dependiente con cantidad de experimentos limitados. En este proceso se va a utilizar la primera fase de optimización en la cual se postula que la variable dependiente tiene una relación lineal con las variable independientes; esto debido a que no es conocida las condiciones óptimas y se asume que se encuentra alejado del punto estacionario, donde se desarrolla un modelo matemático de variables múltiples que razonablemente explican la respuesta en el rango de experimentación, esta primera fase se conoce como diseño factorial 2^k , modificado que conlleva a 5 repeticiones en los niveles intermedios de la variable independiente.

La selección del tipo de metodología para aplicar se rige en función a los resultados que se requiere, así como también a la existencia de la manipulación de variables para poder determinar cuáles son los valores óptimos de las variables físicas para desarrollar dicho proceso, es así que Kuehl (2001), mencionó: “los diseños factoriales producen experimentos más eficientes, pues cada observación proporciona información sobre todos los factores, y es factible ver las respuestas de un factor en diferentes niveles del otro factor en el mismo experimento.” (p.175)

De este modo se logra realizar menos muestras y obtener resultados en función a pruebas oficiales.

1.3.4 Justificación tecnológica

Este trabajo se enmarca en la demanda de un proceso tecnológico que permita competir las aplicaciones elaboradas en el país con aquellas establecidas en el exterior. Desde el punto de vista tecnológico la sustitución de solventes que no dejen residuos en el producto es una exigencia en los mercados que busca la comercialización de productos libre de solvente. Es esta la razón por la cual se usa el CO_2 , ya que en condiciones normales se encuentra en fase gas y puede liberarse con facilidad, así mismo se encuentra mezclado con el producto extraído. Además el scCO_2 no es tóxico ni inflamable.

1.3.5 Justificación económica.

Este proceso cuenta con mayor viabilidad económica al compararse con un proceso continuo, en este proceso se quieren bombas compresoras que son equipos de elevado costo y que requiere continuo mantenimiento, elevando los costos de inversión y de costos de operación. En este proceso no continuo se pueden ensamblar varios aparatos para operarlos en paralelo, y alcanzar rendimiento iguales o mayores al obtenido en procesos continuos. Esto representa la justificación económica extremadamente atractiva para pequeñas y medianas empresas interesadas en adoptar esta técnica para separar productos naturales con excelentes calidades, así como también para competir en el mercado local e internacional.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Tecnología de Fluidos Supercríticos

La Tecnología de fluidos supercríticos son herramientas flexibles para procesar materiales así mismo se han aplicado a procesos de transferencia de masa, procesos de transición de fase, sistemas reactivos, procesos relacionados con materiales y materiales nanoestructurados. Algunas aplicaciones ya están en capacidad industrial, mientras que otras se encuentran en desarrollo.

Un fluido supercrítico es un fluido que se encuentra a una temperatura y presión superior a la del punto crítico. En el caso del CO₂ (T 31.1 °C y P 7.38 MPa) a temperaturas superiores a la críticas no es posible diferenciar una fase líquida condensada respecto al vapor, ya que las propiedades son intermedias entre el líquido y vapor. La densidad y viscosidad del fluido supercrítico alcanza valores intermedios respecto al del líquido y vapor.

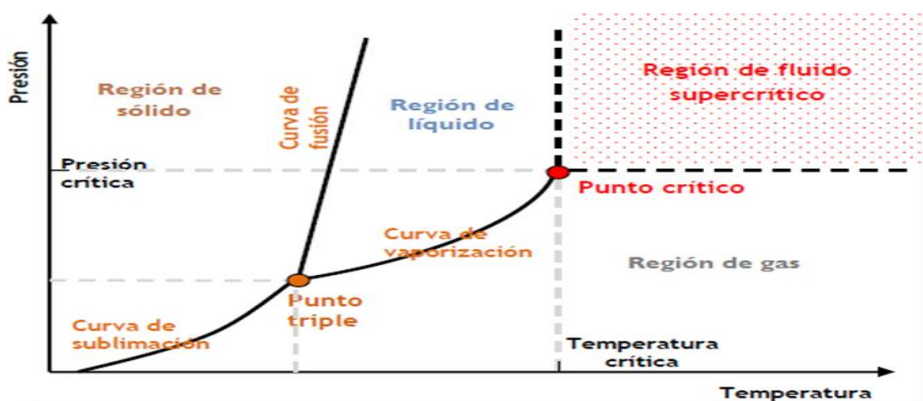


Figura 1. Representación del Diagrama de Fases General, Presión VS Temperatura, del cual se resalta la Región de Fluido Supercrítico, por E. Castaños, 2015, Lidia con la Química, Cromatografía. Copyright 2015 por Enrrrique Castaños.

Uno de los investigadores más importantes en materia de Fluidos Supercríticos (FSC), Gerd Brunner, ha publicado un artículo de revisión donde resume las principales aplicaciones de los fluidos supercríticos en la industria, “Applications of Supercritical Fluids” (2010), enunció: “[...] la impregnación y la limpieza, la formación de partículas y recubrimientos, así como sistemas basados en reacciones químicas como la hidrogenación, gasificación de biomasa u oxidación en agua supercrítica para la eliminación de contaminantes entre otras”.

Este tipo de procesos se apoyan en las ventajas de los fluidos supercríticos como el dióxido de carbono supercrítico, entre las que destacan que son asequibles, inocuos y no tóxicos, por lo que su uso es sostenible, tiene poco impacto sobre el medio ambiente.

Para que estas aplicaciones puedan lograr el éxito, las propiedades de los fluidos supercríticos en combinación con los materiales procesados deben estar claramente determinadas y el conocimiento fundamental del complejo comportamiento debe estar fácilmente disponible.

1.4.2 CO₂ supercrítico

Tras la investigación detallada por Brunner se puede considerar lo siguiente, para ello el Centro Tecnológico AINIA (2011), concluyó: “Esta técnica permite que el CO₂ en estado supercrítico, gas totalmente inocuo que en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico se convierte en un disolvente muy potente, sirva como elemento separador eficaz totalmente limpio” (p.9). Ante lo mencionado por el investigador podemos aseverar que la ventaja del proceso radica en la fácil separación de sustancias; las bajas temperaturas en el proceso la cuál no degrada el producto; así como también ser un elemento no inflamable, no corrosivo, no tóxico, no cancerígeno y tener la capacidad selectiva como también evitar la generación de residuos.

Por lo tanto dicho proceso se define como una opción limpia y segura que los procesos convencionales, de este modo preservar sus principios activos y características propias de las sustancias. Hasta ahora, la mayoría de procesos de este tipo se llevan a cabo con solventes orgánicos muchos de ellos tóxicos, químicos, por lo consiguiente genera problemas tras la presencia de residuos en los productos o crean vertidos del proceso,

entonces podemos afirmar que dicha tecnología y en específico, el uso del ScCO_2 evita problemas para la salud y el medio ambiente

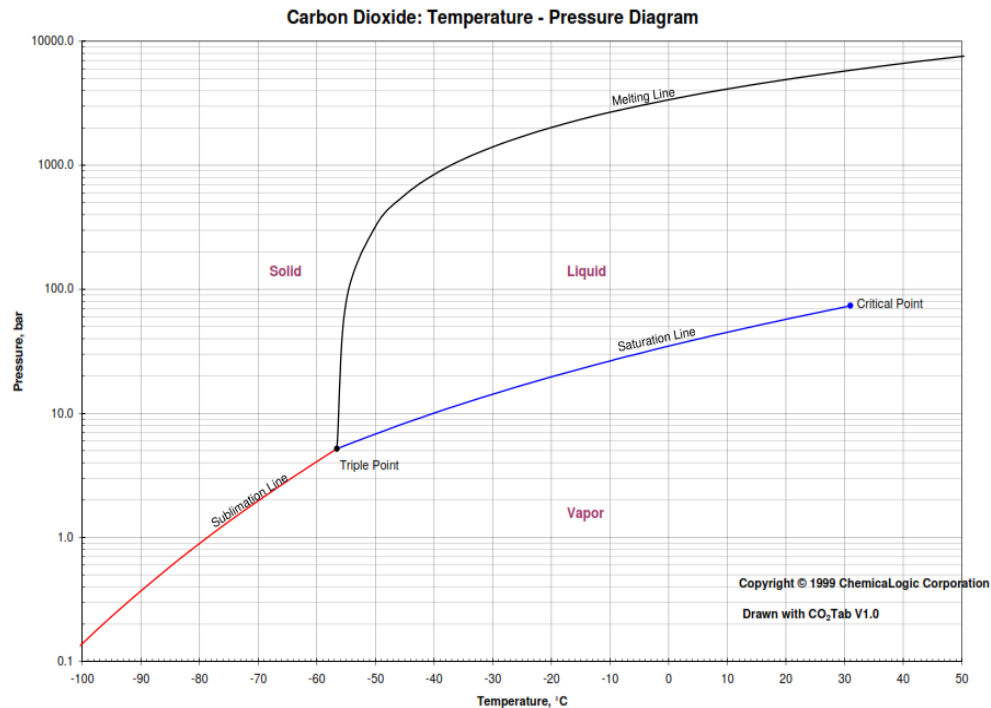


Figura 2. Diagrama de fases del CO_2 supercrítico, Presión VS Temperatura, ChemicaLogic, Copyright 1999.

Dicho gráfico representa los puntos en específico de cada fase del CO_2 , cabe resaltar que la investigación se centra en el CO_2 , pero existen otros fluidos los cuales también se consideran dentro de los supercríticos.

A continuación se presenta una lista de fluidos, los cuales están considerados dentro de la Tecnología de fluidos supercríticos.

Tabla 1. Principales solventes Fsc usados por las industrias.

| Solvente | Masa Molar g/mol | Temp. Crítica (K) | Presión Crítica MPa (atm) | Densidad g/cm³ |
|---|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Dióxido de Carbono (CO₂) | 44,1 | 304,1 | 7,38 (72,8) | 0,469 |
| Agua (H₂O) | 18,02 | 647,3 | 22,12 (218,3) | 0,348 |
| Metano (CH₄) | 16,04 | 190,4 | 4,60 (45,4) | 0,162 |
| Etano (C₂H₆) | 30,07 | 305,3 | 4,87 (48,1) | 0,203 |
| Propano (C₃H₈) | 44,09 | 369,8 | 4,25 (41,95) | 0,217 |
| Etileno (C₂H₄) | 280,5 | 282,4 | 5,04 (49,7) | 0,215 |
| Propileno (C₃H₆) | 42,08 | 364,9 | 4,60 (45,4) | 0,232 |
| Metanol (CH₃OH) | 32,04 | 512,6 | 8,09 (79,8) | 0,272 |
| Etanol (C₂H₅OH) | 46,07 | 513,9 | 6,14 (60,6) | 0,276 |
| Acetona (C₃H₆O) | 58,08 | 508,1 | 4,70 (46,4) | 0,278 |

Nota: En la tabla se muestra las propiedades que en muchos casos son únicas y que difieren considerablemente del estado líquido y gaseoso. Las cuales son viscosidad, densidad y coeficiente de difusión. La tabla fue elaborada para caracterizar los Fsc estudiados, indicó P. Bolufer, 2016, Revista Técnica de Fluidos, 1254, p.30. Copyright 2016 por Pascual Bolufer.

1.4.3 Control de las variables en procesos industriales.

Para poder controlar un proceso industrial cualesquiera es necesario de manipular ciertas variables que determinan el proceso. Por ello Pacheco (2010), indicó: “Los procesos industriales requieren de mediciones y del control de variables físicas como temperatura, flujo, o caudal, nivel de líquidos o sólidos, densidad, presión de líquidos o gases fuerza y esfuerzo o deformaciones.” (p. 16), es así que para el proceso de Extracción Supercrítica se tomará en cuenta las variables físicas críticas que determinarán ciertos aspectos de la calidad del extracto de stevia apartir del control de la temperatura y presión.

1.4.3.1 Tempertura y Presión Supercrítica

Sotelo y Ovejero (2008), describieron: “La Temperatura Supercrítica es aquella temperatura superior a la temperatura crítica, donde además un fluido no puede pasar al estado líquido por elevación de presión. [...]La Presión Supercrítica, es aquella presión superior a la presión crítica del fluido donde no puede haber vaporización al incrementar la temperatura.” (p.1)

Entonces tras la investigación realizada por Sotelo y Ovejero podemos aseverar que en función a la teoría dada por el Diagrama de Fases, se puede afirmar que tanto la

presión como la temperatura supercrítica se encuentran en la región derecha superior del diagrama, ya que es allí donde se encuentra la temperatura y presión óptima para caracterizar al scCO₂.

Como se definió anteriormente, un fluido supercrítico es aquel fluido que se encuentra sometido a condiciones de presión y temperatura por encima del punto crítico, siendo éste el punto designado por una temperatura crítica (T_c) y una presión crítica (P_c).

1.4.4 Proceso de Extracción Supercrítica

Parte del proceso e instrumentación general para este proceso consta de las siguientes partes:

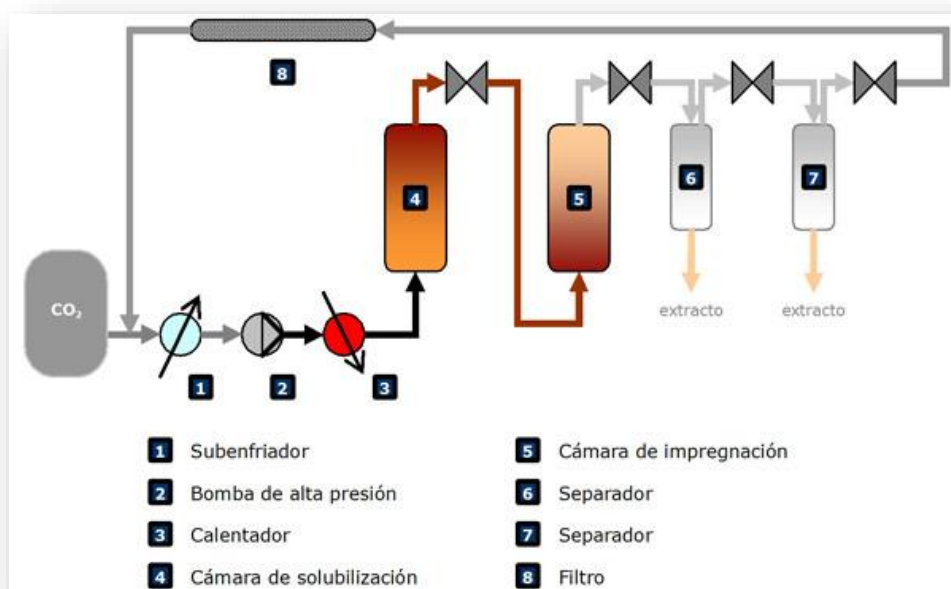


Figura 3. La figura nos muestra la instrumentación general para lograr la extracción supercrítica la cual debe tener la capacidad de impulsar el CO₂ a alta presión, manteniendo el flujo constante. por E. Castaños, 2015, Lidia con la Química, Cromatografía. Copyright 2015 por Enrrrique Castaños.

Si bien con este proceso podemos obtener el extracto deseado a partir de la hoja de stevia, sometiéndola a temperatura, presión, y en un determinado tiempo.

Dicho proceso básicamente consta de la separación de materia prima durante el proceso y la recuperación de la materia activa.

Cabe resaltar que para el proceso mostrado en la **Figura 3**. Se desarrolla un proceso continuo por lo cual si se desea llevar a cabo mas experimentos los consumibles seran altos, a diferencia que contar con un sistema batch, ya que en el sistema o procesos continuos la variables que caracterizan este tipo de proceso es el volumen, es así que en los procesos a mayor escala se aplica los sistemas continuos, mientras que en batch tienen como variable característica el tiempo ya que son fáciles de simular procesos o operaciones en específico y se desarrollán a escala de laboratorio de esta manera identificar el modelo matemático que interviene.

1.4.5 Técnica de optimización o superficie respuesta

La investigación se centra en el primer orden o base de la optimización, ya que la formulación matemática es lineal o de regresión lineal, así mismo indicar que en el presente proyecto se elaboró las bases para la primera etapa de optimización la cual requiere de nuevo experimento.

1.4.6 Espectroscopia de Estevia.

Los estándar se obtuvieron en base a los datos tomados por Lutzenko *et al*, quien en su investigación nos dan a conocer la longitud de onda y absorvancia de 4 extracciones de stevia, de las cuales en la **Figura 4**, se observa que el extracto N° 2 el cual se a sometido a condiciones de temperatura y tiempo distinta a obtenido el pico deseado con una longitud de onda de 218 nm. El cual también influye en el rendimiento de stevia.

Cabe resaltar que para Yurkanis (2008), la espectroscopia (UV/VIS): “... proporciona información acerca de compuestos que tienen enlaces dobles conjugados.” (Química Orgánica, p. 579), lo cual al ser representado graficamente nos indica la transición electrónica en una molécula. De tal manera que esta absorvera o la luz ultravioleta o luz visible. Y asi determinar si el espectro es visible o UV.

Tomar en cuenta que si la lectura nos muestra una longitud de onda entre los 180 a 400 nm, es considerado el espectro UV, pero si este se encuentra entre los 400 a 780 nm es considerado espectro visible. De tal manera se infiere que que la longitud de onda

y la energía de radiación guardan una relación inversa. Así mismo la luz UV absorbe mayor energía que la luz visible.

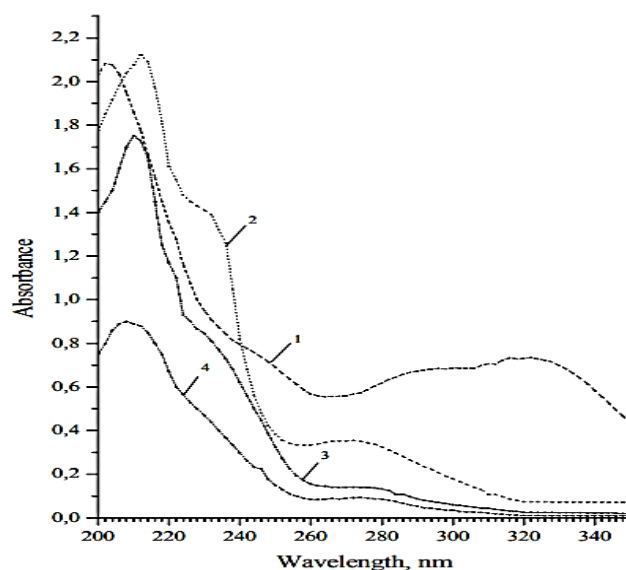


Figura 4. La imagen muestra 4 extracciones de stevia bajo diferentes parámetros de obtención en función a las variables físicas, de la cual se resalta la extracción N°2 con el pico mas alto en función a la longitud de onda. N. Lutzenko (2016), Determination of the total content of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana*. Der Chemica Sinica.

1.4.7 Estructura química de la Estevia.

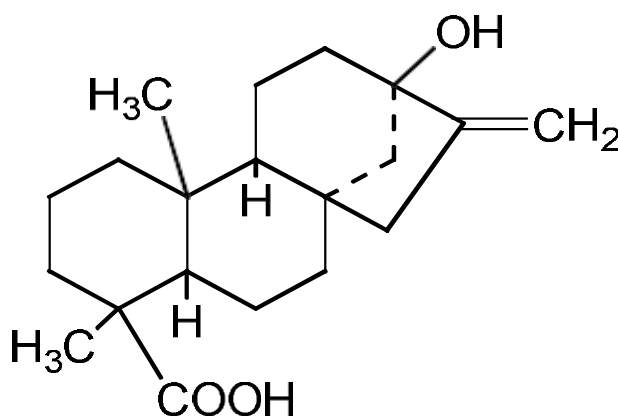


Figura 5. La figura muestra la estructura química de la estevia. Determination of the total content of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana* plant by the method of direct potentiometry por Lutenzko (2016). Der chemica Sinica.

1.4.8 Extracción Orgánica

El fundamento de la extracción se basa en la separación o aislamiento específico de compuestos orgánicos.

Si bien es cierto en la actualidad se busca nuevas formas de extracción, pero todas con un mismo fundamento, siendo la extracción continua o discontinua.

Es así que Gomez y Rodríguez (2008), indicaron lo siguiente; “La extracción es un método empleado para separar unos compuestos químicos de otros con los que se encuentran mezclados y disueltos en un mismo disolvente.” (p. 74).

Cabe resaltar que si se desea extraer la mayor cantidad del compuesto orgánico es necesario indagar sobre el disolvente que mejor actúe durante el proceso, para ello considerar lo siguiente:

No debe reaccionar con el compuesto por extraer, de tal manera la muestra extraída sera en su totalidad pura, así mismo se obtara por una mejor caracterización.

No ser tóxico, ya que todo proceso debe ser amigable con el medio ambiente.

Tener bajo costo, ya que al ejecutar el proceso se desarrollarán un sin número de pruebas hasta lograr identificar y establecer los parámetros de control.

1.4.9 Análisis de varianza

Tabla 2. Resumen del ANOVA

| Fuente de Error | Grados de Libertad | Suma de cuadrados | Media de Cuadrados | Razon F | Valor crítico de F |
|-----------------|--------------------|-------------------|---------------------|--|--------------------------|
| Regresion | m-1 | SSreg | $\frac{SSreg}{m-1}$ | $\frac{\frac{SSreg}{m-1}}{\frac{SSee}{n-m}}$ | qF(α , m-1, n-m) |
| Error Exp | n-m | SSee | $\frac{SSee}{n-m}$ | | |
| Total | n-1 | SSt | | | |

Nota: En la tabla, Resumen del ANOVA, se formula el cálculo estadístico del análisis de la varianza, dicha tabla se enfoca al problema de la investigación, cabe resaltar que dicha tabla es un abstracto recopilado por D. Montgomery, 2004, 2da. Ed. p. 180. Editorial Limusa.

Cabe resaltar que:

Si $F > qF$ se rechaza la H_0

Si $F < qF$ se acepta la H_0

Siendo “ qF ”, el factor de Fisher.

Definiciones de parámetros en ANOVA

n = numero de datos

m = numero de factores encontrados para la regresión

Ecuaciones requeridas en ANOVA

$$SS_{reg} = \sum_{i=1}^n (y_{11i} - \text{promedio}(y))^2 \quad (1)$$

$$SS_t = \sum_{i=1}^n (y_i - \text{promedio}(y))^2 \quad (2)$$

$$SS_{ee} = SS_t - SS_{reg} \quad (3)$$

Donde:

y_{11i} Representa los valores estimados de la masa de estevia extraída usando el modelo.

y_i Representa los valores medidos experimentalmente de la masa de estevia extraída.

$\text{promedio}(y)$ Representa el valor promedio de la masa de estevia extraída y medidos exp.

Algebra matricial para obtener los parámetros del modelo:

$n := 9$

$x_1 := t$

$x_2 := T$

$y := \text{massf}$

$$X := \begin{bmatrix} n & \sum_{i=0}^8 x_{1i} & \sum_{i=0}^8 x_{2i} \\ \sum_{i=0}^8 x_{1i} & \sum_{i=0}^8 (x_{1i})^2 & \sum_{i=0}^8 (x_{1i} \cdot x_{2i}) \\ \sum_{i=0}^8 x_{2i} & \sum_{i=0}^8 (x_{1i} \cdot x_{2i}) & \sum_{i=0}^8 (x_{2i})^2 \end{bmatrix}$$

$$Y := \begin{bmatrix} \sum_{i=0}^8 y_i \\ \sum_{i=0}^8 (x_{1i} \cdot y_i) \\ \sum_{i=0}^8 (x_{2i} \cdot y_i) \end{bmatrix}$$

1.5 Problema

1.5.1 Problema General

¿Pueden influir la Temperatura y el tiempo en el Proceso de la Extracción de Stevia con CO₂ en las condiciones cercanas a las críticas?

1.5.2 Problema Específico 1

¿Pueden influir la Temperatura en el Proceso de la Extracción de Stevia con CO₂ en las condiciones cercanas a las críticas?

1.5.3 Problema Específico 2

¿Pueden influir el tiempo en el Proceso de la Extracción de Stevia con CO₂ en las condiciones cercanas a las críticas?

1.6 Hipótesis

1.6.1 Hipótesis general

H1: La Temperatura y el tiempo tienen efecto en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

H0: La Temperatura y el tiempo no tienen efecto en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

1.6.2 Hipótesis Específica 1

La Temperatura tiene efecto en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

1.6.3 Hipótesis Específica 2

El tiempo tiene efecto en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la temperatura y el tiempo en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

1.7.2 Objetivo Específico 1

Determinar el efecto de la temperatura en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

1.7.3 Objetivo Específico 2

Determinar el efecto del tiempo en la Extracción de Stevia con CO₂ en condiciones cercanas a las críticas.

II. MARCO METODOLOGICO

2.1 Diseño Experimental

En función al diseño, la presente investigación se muestra como Experimental, Experimental puro, de tal manera que los diseños en función a la variables independientes y la respuesta que se requiere se tomará como referencia a Montgomery (1995), quién en su libro Diseño y Análisis de experimentos, hace mención a que los diseños de dos factores y dos niveles minimo y máximo tienen una respuesta base para lograr respuestas óptimas, esta respuesta base o modelamiento matemático responde a la forma de la regresión lineal.

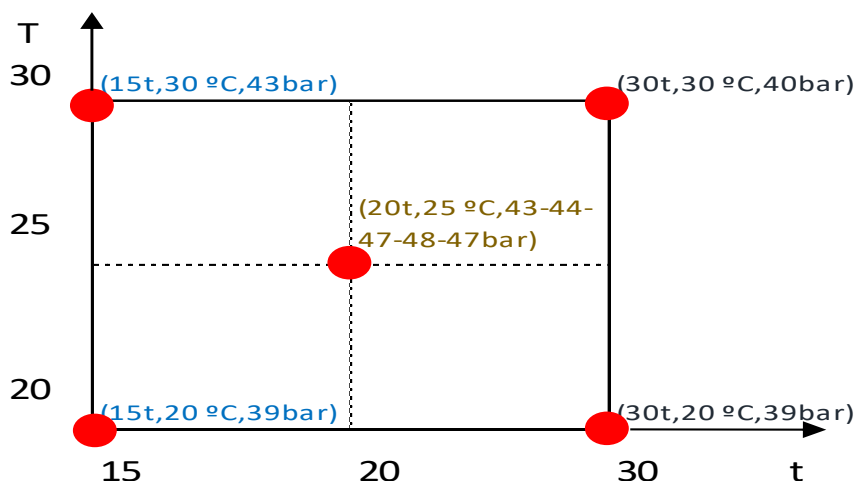


Figura 6. Representación grafica T° y t , en la cual se trabajara durante el experimento.

Elaboración propia.

En la **Figura 6.** nos muestra los valores mínimos y máximos en los cuales se registrará el proceso para la obtención de extracto de stevia. Dichos valores establecidos mediante bibliografía de otros autores. Así mismo se encuentran establecidos de acuerdo al diseño de experimentos factorial 2K.

Tabla 3. Resumen de los experimentos en función al tiempo y Temperatura a efectuar.

| tiempo | Temperatura | Presión |
|--------|--------------------|---------|
| Min | $^{\circ}\text{C}$ | bar |
| 15 | 30 | 43 |
| 30 | 30 | 40 |
| 15 | 20 | 39 |
| 30 | 20 | 39 |
| 20 | 25 | 44 |
| 20 | 25 | 43 |
| 20 | 25 | 47 |
| 20 | 25 | 48 |
| 20 | 25 | 47 |

Elaboración propia.

2.2 Metodología

2.2.1 Extracción de hoja de estevia

2.2.1.1 Materiales

Equipos e instrumentos

- Dispositivo de extracción
- Balanza de 4 dígitos.

Materiales para el experimento:

- Llave N° 13, para tuercas.
- Recipiente o vaso precipitado para recuperar el extracto.

2.2.1.2 Materia prima

Dicho experimento tiene como materia prima a las hojas secas de estevia la cual fue adquirida de Stevia Coronel, fecha empaquetado fue el 10/03/2018. del Lote 001, así mismo por temas de confidencialidad no se obtuvo el lugar de origen de las hojas de estevia.

Así mismo en los anexos se muestra la ficha técnica de las hojas secas de estevia.

2.2.1.3 Descripción del dispositivo de extracción

El dispositivo de extracción es de forma cilíndrica de 80 mm de dia. / 150 mm de altura, y está construido en acero inox calidad 316, cedula 80. Cabe resaltar que dicho tipo de acero tiene resistencia a la tracción de 373 bar. Para control de Temperatura se incluye una resistencia eléctrica, cuyo flujo de corriente es controlado a través de un dispositivo electrónico llamado DIMER, el sensor de temperatura es de tipo-J, con una lectura digital de 3 dígitos.

La parte superior del recipiente es una placa de 3/8 de espesor, sobre la cual se ensambla un manómetro con capacidad de lectura de 150 bar. Una Válvula de alivio de presión manual y 6 tornillos sujetan la tapa al recipiente. En la pared lateral del recipiente se ubica un punto de descarga a través de una válvula manual. Adicionalmente se instaló un visor de 25 mm de diámetro construido en acrílico, los sellos de las tapas y del visor son de anillos de VITÓN los cuales tienen una resistencia de 70 bar (1155 psi)

2.2.1.4 Procedimiento para ejecutar la extracción de hoja de estevia.

Según el modelo factorial modificado se preparan 9 muestras cada uno de 10.9 grs. De materia prima. El material con 30% de humedad se carga en el recipiente de extracción. 150 mL de Etanol absoluto se mezclan dentro del reactor con la materia prima y se agregan 78 gr de CO₂ sólido, se sella el recipiente con la válvula de alivio abierta, hasta alcanzar condiciones de equilibrio. Se ajusta la corriente eléctrica a través del dispositivo de calentamiento hasta alcanzar la Temperatura de operación de recipiente.

Luego de tomar lectura de la Temperatura y Presión, inicia el conteo de tiempo hasta los valores sugeridos en el diseño de experimento. Luego de concluir el tiempo de experimentación se abre la válvula de descarga y se recupera la muestra en el recipiente limpio para su caracterización en el análisis físico - químico.

Así mismo se registra cada experimento en función al t-T y la presión obtenida en el formato **FRD-001**.

2.2.2 Caracterización del extracto de estevia, Análisis Físico-Químico

2.2.2.1 Preparación del estándar de stevia

2.2.2.2 Materiales

- Vaso precipitado
- Balanza analítica
- Agitador electromagnético
- Pizeta
- Pipeta de 5 ml
- Propita
- Micropipeta
- Fional de 100 ml
- Magnetos
- Etanol absoluto
- Espátula
- Estevia (cristales)

2.2.2.3 Procedimiento de preparación del Estandar de estevia

Encender la balanza analítica y calibrar.

Tomar un vaso precipitado de 100 ml y colocar en la balanza para su pesado, una vez se estabilice la balanza presionar TARE-ON.

Agregar con la espátula una cantidad mínima para poder alcanzar los 0.01 g de stevia (cristal). Y lograr la estabilidad del pesado.

Una vez obtenida la cantidad requerida de estevia en el vaso precipitado, aforar el vaso con etanol absoluto.

Encender el agitador eletromagnético y elevar la temperatura hasta llegar a los 300 °C, de sensación termica en la plancha, pero el etanol alcanzará a los 105 °C para lograr que este hierva y pueda disolver a los cristales de estevia, así mismo encender el agitador y llevar a 250 rpm. Dejar que se disuelva los cristales por un periodo aproximado de 15 min.

Una vez que no exista o se presencie la visualización de cristales llevar la solución a una fiola de 100 ml y de ser necesario aforar con etanol abs. hasta lograr los 100 ml exacto ya que cabe la posibilidad que al llevar a punto de bullición en el agitador electromagnetico, este pueda haber evaporado, de esta manera obtener el patrón para la curva de calibración.

Ahora repetir todo el procedimiento pero con 0.05 g de estevia en cristales

2.2.3 Preparación de muestra

Tras la obtención del extracto de estevia de acuerdo al diseño, de temperaturas y tiempos de reacción mínimos y máximos obtendremos 4 muestras diferentes y adicionalmente a ello según Montgomery una quinta muestra con 5 repeticiones.

De cada muestra rotulada se tomó 0.5 mL y agregó en el tubo para la centrifuga, los cuales de acuerdo a la muestra fueron rotulados.

Tras haber rotulado cada muestra extraída y colocada en los tubos de la centrifuga, se encendió la centrifuga, y programó a 2000 rpm por 15 minutos, de tal manera que no se visualice particulas en suspensión.

Una vez con la muestra centrifugada en los etendoll, quedaran listo para poder dar lectura en el espectrofotómetro.

2.2.4 Lectura de la absorbancia del estándar y muestras

2.2.4.1 Materiales

- Fiolas de 25 mL
- Fiolas de 100 mL
- Espectrofotómetro
- Celdas de cuarzo
- Micropipeta de 100 μ L
- Pipeta de 5 mL
- Propipeta
- Etanol abs.
- Muestras centrifugadas del extracto de estevia. (en tubos de centrifuga de 0.5 mL).
- Depósito para desagregar el contenido de las celdas, tras la lectura obtenida del espectrofotómetro.
- Papel tissue
- Pizeta con agua destilada

2.2.4.2 Lectura para hallar la curva de calibración.

Encender el espectrofotómetro, y programar con una longitud de onda en función a los 218 nm, de acuerdo al sustento de teóricos(Lutzenko,2016).

Una vez programado el equipo, enjuagar la celda de cuarzo por 3 veces con etanol abs. y la 4 vez solo se agregara a la celda, con papel tissue (extra suave), limpiar las paredes externas de la celda, de tal manera de que no influya en la medición de la absorbancia cuando este se encuentre en el equipo. Finalmente se colocará en el equipo en la posición de blanco.

Repetir los enjuagues, ahora con el patron que contiene 0.01g de estevia en cristales y aforado a 100 ml de etanol. Y colocar en la celda 1

Una vez instalada la celda del blanco y celda 1 con la primera dilución al 100%, para el estándar, dar lectura al blanco y medir la absorbancia hasta que este muestre lectura de 0.00 de absorbancia, solo así se podra dar pase a la lectura de la celda 1.

Con esta primera lectura obtendremos el primer punto de nuestra curva.

Ahora, se dará lectura a los 3 puntos mas, que como mínimo se requieren para formar la recta al graficar en el programa Mathcad.

Previo a ello se calculará la concentración que se debe tomar del patrón para poder aforar con etanol abs. en fioas de 25 mL; de acuerdo a los calculos obtenidos para hallar la concentraciones que se requiere para los 3 puntos adicionales son; 12.5 ml, 6.25 ml y 3.125 ml del patron con una pipeta y agregar a las fioas.

Una vez obtenida las diluciones repetir todo el procedimiento hasta colocar cada dilución en las celdas de cuarzo junto al blanco, para comparar y medir la absorvancia de cada dilución.

Por lo tanto se obtendrá 4 lecturas con absorvancias diferentes de las celdas 1. A diferentes concentraciones del patrón de estevia a 100 mL que contine 0.01g de estevia en cristal diluido.

De acuerdo a teóricos la absorvancia debe ser menos a 1, pero la lectura óptima se encuentra cuando este es como máximo 0.6 de absorvancia.

Ahora repetir el procedimiento pero con el patrón N°2, el cual contiene 0.05 g de etevia. Aforado en 100 mL de etanol. Y dar una primera lectura al 100%, extraendo 100 µL del patrón para conocer la absorvancia como primer punto de la curva.

Ahora en función a las lecturas del patron N°1 y 2, con pureza del 100% se obtuvo la siguiente lectura; 0.700 nm y 2.786 nm repectivamente. Con estos datos asumiremos como patrón para la curva de calibración al patron N°1, ya que el dato de la absorvancia debe ser menor a 0.6 de ser lo mas cercano. Solo así podremos empezar con la dilución en las proporciones de 12.5, 6.25, y 3.125 mL, con la pipeta. Aforados en fioas de 25 mL con etanol absoluto.

Por ultimo registrar los datos obtenidos del equipo en el formato **FRD-002**.

2.2.4.3 Lectura de la absorvancia obtenida en las muestras del experimento

Ahora con el procedimiento antes mencionado se dara lectura a cada una de las muestras contenidas en los tubos de la centrifuga (9 unidades), de los cuales se extraera con la micropipeta 100 µL de la muestra y se llevará a las fioas de 25 mL aforando a 100 mL con etanol y desarrollar el procedimiento antes mencionado para la lectura de la absorvancia en el espectrofotómetro. Los cuales deben ser menor a la muestra patrón

y comparadas cada una con el blanco que es el etanol absoluto en el equipo. Y registrados en el formato **FRD-002**.

2.2.5 Medición de la viscosidad

2.2.5.1 Materiales

- Muestra de volumen mayor a 250 ml del experimento (30°C, 30min)
- Viscosímetro
- Sensor de temperatura
- Recipiente

2.2.5.2 Procedimiento para la lectura de viscosidad.

Encender en viscosímetro y calibrar, presionar el boton **ON**, de esta manera lograr la tara antes de empezar con la lectura colocar el sensor R2 el cual gira a 100 rpm.

Antes de empezar con la lectura asegurarse de que el sensor de temperatura se encuentre en un recipiente con agua a temperatura ambiente, de tal manera la lectura sea lo mas exacto y no exista el falso/negativo que pueda alterar la lectura, una vez que el sensor se encuentre el el recipiente con agua, iniciar la lectura, para este muestra es de 22°C

Para poder empezar con la lectura se debe tener en cuenta la densidad de la muestra a evaluar, en este caso es de 0.792 g/cc

Una vez que llegue al 100% de ejecutada la lectura te dara una viscosidad estable la cual esta en centistoke (cSt), el dato obtenido al finalizar la lectura fue de 128 cSt.

Dichos datos serán registrados en el formato **FRD-003**.

2.3 Tipos de estudio:

El presente estudio es una investigación aplicada, ya que se basa en conocimientos ya existentes, obtenidos mediante investigación y/o experiencia práctica. De esta manera se pretende lograr el establecimiento de una alternativa para la extracción de estevia. Esta investigación no solamente debe incluir la formulación de la s bases de la primera fase de la optimización, sino tambien validar el proceso de modo que resulte confiable.

Tecnológicamente se ofrece una alternativa robusta en la extracción de stevia comparable con los procesos de extracción de flujo continuo.

2.4 Población, muestra y muestreo

2.4.1 Población

La población consiste de 2 kilogramos de stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), en hoja seca, la cual fue adquirida de Stevia Coronel SAC.

2.4.2 Muestra

La cantidad de muestra son 9 cada uno de 10.9 gr, según lo establecido por el diseño experimental, el cual establece 9 experimentos.

Se llevo a cabo un muestreo no probalístico, por conveniencia.

2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La recolección de datos se tomará de forma ordenada, de tal forma que la tabulación de los resultados para cada experimento permita realizar el análisis estadístico que resulta en validar la hipótesis del proyecto. El instrumento se reporta en Fichas de recolección de datos por observación directa, tomadas tanto del dispositivo como de la lectura del espectrofotómetro UV y del viscosímetro. Para ello verificar los formatos **FRD-001, FRD-002 y FRD-003**.

2.6 Métodos de análisis de datos

Tabla 4. Validación de la hipótesis basada en el análisis de Varianza (ANOVA)

| Fuente de Error | Grados de Libertad | Suma de cuadrados | Media de Cuadrados | Razón F | Valor crítico de F |
|-----------------|----------------------|-----------------------|-----------------------------------|---|---------------------------------|
| Regresión | $m-1$ $3-1 = 2$ | $SS_{reg} =$ 0.605 | $\frac{SS_{reg}}{m-1} =$ 0.303 | $\frac{SS_{reg}}{\frac{SS_{ee}}{n-m}} =$ 0.678 | $qF(\alpha, m-1, n-m)$ 0.052 |
| Error Exp | $n-m$ $9 - 3 = 6$ | $SS_{ee} =$ 2.678 | $\frac{SS_{ee}}{n-m} =$ 0.446 | | |
| Total | $n-1$ $9-1 = 8$ | $SS_t =$ 3.284 | | | |

Ecuaciones requeridas en ANOVA

$$SSreg = \sum_{i=1}^n (y_{11i} - promedio(y))^2 \quad (1)$$

$$SSt = \sum_{i=1}^n (y_i - promedio(y))^2 \quad (2)$$

$$SSee = SSt - SSreg \quad (3)$$

Algebra matricial para obtener los parámetros del modelo:

$n := 9$

$x1 := t$

$x2 := T$

$y := massf$

$$X := \begin{bmatrix} n & \sum_{i=0}^8 x1_i & \sum_{i=0}^8 x2_i \\ \sum_{i=0}^8 x1_i & \sum_{i=0}^8 (x1_i)^2 & \sum_{i=0}^8 (x1_i \cdot x2_i) \\ \sum_{i=0}^8 x2_i & \sum_{i=0}^8 (x1_i \cdot x2_i) & \sum_{i=0}^8 (x2_i)^2 \end{bmatrix} \quad Y := \begin{bmatrix} \sum_{i=0}^8 y_i \\ \sum_{i=0}^8 (x1_i \cdot y_i) \\ \sum_{i=0}^8 (x2_i \cdot y_i) \end{bmatrix}$$

Coefficientes del Modelo usando algebra de matrices:

$$\beta := X^{-1} \cdot Y \quad \beta = \begin{pmatrix} 2.089 \\ -0.05 \\ 8.957 \times 10^{-3} \end{pmatrix}$$

Modelo desarrollado:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2$$

$$y1(x1, x2) := 2.089 - 0.05 \cdot x1 + 8.957 \times 10^{-3} \cdot x2 \quad (4)$$

Resultados de las mediciones experimentales y de las masas de estevia estimadas con la Ecuación (4):

$$\begin{array}{ccccc}
 \begin{pmatrix} 15 \\ 30 \\ 30 \\ 15 \\ 20 \\ 20 \\ 20 \\ 20 \\ 20 \end{pmatrix} &
 \begin{pmatrix} 30 \\ 20 \\ 30 \\ 20 \\ 25 \\ 25 \\ 25 \\ 25 \\ 25 \end{pmatrix} &
 \begin{pmatrix} 1.43 \\ 0.796 \\ 0.429 \\ 0.884 \\ 1.56 \\ 1.56 \\ 1.56 \\ 1.56 \\ 1.56 \end{pmatrix} &
 \begin{pmatrix} 1.608 \\ 0.768 \\ 0.858 \\ 1.518 \\ 1.313 \\ 1.313 \\ 1.313 \\ 1.313 \\ 1.313 \end{pmatrix} &
 \begin{pmatrix} 1.43 \\ 0.796 \\ 0.429 \\ 0.884 \\ 1.28 \\ 1.229 \\ 1.43 \\ 2.73 \\ 1.132 \end{pmatrix} \\
 t := & T := & \text{massf} := & y11 := & \text{MassF} := \text{CCf} \cdot 130 =
 \end{array}$$

Donde el tiempo (t) es en minutos, la temperatura (T) en °C, y la masa de estevia massf en gramos. y11 es la masa de estevia calculado con el modelo en forma de Ecuación (4).

Diagrama en tres y dos dimensiones de la masa extraida de estevia como función de (t, T):

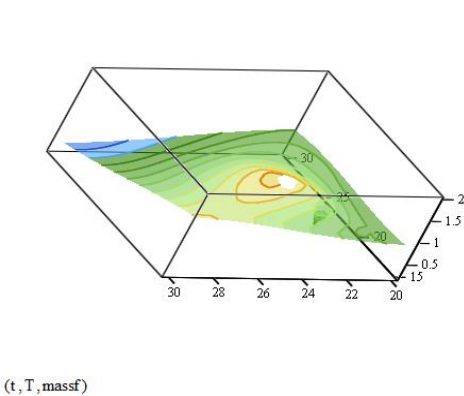


Figura 7. Representación grafica 3D, sotware Mathcad Prime,2018
Elaboración propia

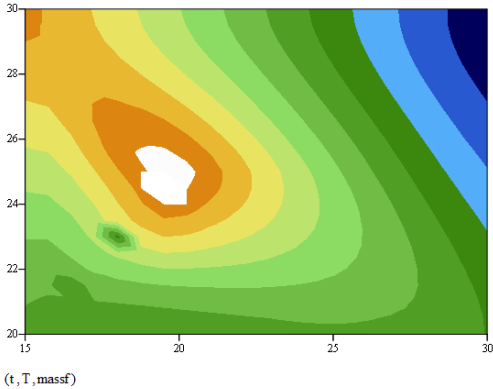


Figura 8. Representación grafica 2D, sotware Mathcad Prime, 2018
Elaboración propia

Posición del Factor F y del valor crítica de F en la distribución de Fisher:

$$F = 0.678, qF = 0.052$$

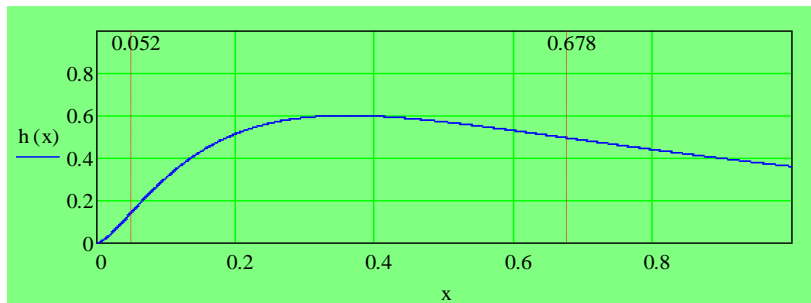


Figura 9. Representación del factor fisher y el valor crítico, software Mathcad Prime, 2018
Elaboración propia

2.7 Aspectos éticos

La presente investigación se ejecuta con la mayor seguridad posible de tal manera que no se manipula elementos que causen daño a la salud, así mismo durante la experimentación se sugiere que el dispositivo en mención requiere de la protección en caso de alcanzar altos niveles de presión.

Cabe resaltar que todos los datos obtenidos son reales y se llevaron a cabo con la supervisión u observación de un tercero de tal manera que si ocurriera algún evento, este se encontraría entrenado para la manipulación del equipo por lo mismo que el equipo cuenta con doble llave de alivio. En caso de que una falle queda la segunda.

III RESULTADOS

El factor de Fhisman (F) es mayor que Valor crítico (qF), entonces se rechaza la hipótesis nula con un 95% de confianza.

Aceptar la hipótesis alternativa H_1 , indica que la masa de estevia extraída depende de los parámetros tiempo y temperatura, y los coeficientes del modelo teórico $\beta_i \neq 0$, tal como fue obtenida por el álgebra de matrices y ahora validado por ANOVA.

Lo cual indica que las variables físicas Temperaturas y tiempo si influyen en el rendimiento del extracto de estevia, en los puntos cercanos a los críticos, nonecesariamente en los críticos.

IV DISCUSIÓN

En este proyecto la Temperatura durante el proceso fue establecido entre 20 a 30° C, del cual se obtuvo la mayor extracción equivalente a 0.14 g de esteviol/gramos de hoja de estevia y procesada a 25° C. A diferencia de AKGUN, *et al*, (2009), alcanzaron a los 80° C de temperatura para poder obtener 37 mg/ gramos de hoja de estevia. Esto indica que el impacto de este proyecto es substancial ya que se redujo la temperatura en una tercera parte y alcanzando 2 ordenes de magnitud mayor que el obtenido por el autor en mención.

Bentancur et al (2017) recurrieron a 45 minutos y a una temperatura de 80° C para alcanzar un rendimiento de 3% durante la extracción de estevia, adicionalmente acudieron a dos cosolventes, para alcanzar el mencionado rendimiento. En este trabajo el cual operó a 20 minutos bajo 25° C alcanzando un rendimiento de 14% en la extracción de estevia. Entonces nuestro proceso batch a escala de laboratorio tiene un enorme potencial de desarrollo, ya que se logró reducir el tiempo de proceso de extracción y un alto rendimiento en la extracción de la estevia.

La caracterización del producto final requería de una curva de calibración de absorbancia y concentración de la información proveniente de un Espectrofotómetro UV – VIS modelo GENESYS 10S UV-VIS, el cual se ubica en el lab. De Biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo Lima Este, así mismo hacer mención a que dicho equipo cuenta con un certificado de calibración por parte de INACAL, la detección de la estevia en UV tiene una absorbancia de radiación con una longitud de onda de 218 nm. Esta longitud de onda es referida de trabajos previos, Lutsenko et al (2016).

La temperatura y la presión en el dióxido de carbono a presiones elevadas están relacionadas a través de modelos de gases complejos, como la cantidad del CO₂ es fija y completamente cerrada, entonces la final la temperatura del CO₂ también queda fija como su presión. A temperatura de 25°C la presión desarrollada por el CO₂ alcanza los 46 bar. Y esta presión es substancialmente baja si se compara con valores mayores a 200 bar., el cual Yoda, *et al*, (2003) usaron durante su proyecto.

El producto final consiste en una mezcla de materiales orgánicos y etanol, esta mezcla compleja tiene una viscosidad de 128 centiStokes (cSt, mm²/s). Para esta medición se utilizo un viscosímetro de disco para rotación radial que mide viscosidad cinemática, el equipo fue recientemente adquirido por la Universidad con garantía de fabricante. FungilabXpert. No existen publicaciones que reporten mediciones de viscosidad del producto disuelto estevia.

V CONCLUSIONES

No se requiere llegar a condiciones críticas del CO₂ para extraer considerables cantidades del extracto a partir de hoja de estevia. Siendo conocidos los valores para la presión y temperatura crítica de 31 °C y 73 bar. respectivamente. Los procesos batch que se ejecutaron en este experimento fueron de 25°C y 46 bar., logrando alto rendimiento en la extracción de estevia con los valores antes mencionado.

No necesariamente requieren de tiempo extendido para lograr alto rendimiento en la extracción de estevia. Por ejemplo en 30 minutos se alcanza un rendimiento de 0.8 gr de estevia mientras que a los 25 minutos se alcanza un rendimiento de 1.4 gr del producto. Esto indica que cuanto mayor es el tiempo de contacto la estevia se reabsorbe en los tejidos originales.

De acuerdo a la Ecuación 4, que representa el modelo de primer orden entre el rendimiento y las variables independientes, tiempo y temperatura, al incrementarse el tiempo disminuye el rendimiento, mientras que al incrementar la temperatura aumenta el rendimiento, ello es válido solo para la región de exploración dado por el diseño experimental factorial según se muestra en la **Figura 7**.

De acuerdo a los resultados experimentales y tomando como base las mediciones del rendimiento a mayor tiempo menor rendimiento, mientras que al incrementar la temperatura existe cierta discrepancia en tiempos cortos incrementa, mientras que en tiempos extendido disminuye. Cuando simultáneamente se aumenta el tiempo y temperatura el rendimiento disminuye. Al incrementar el tiempo y disminuir la temperatura no hay diferencia significativa en el rendimiento.

Tal como se reporta en el análisis de varianza la conversión depende del tiempo y Temperatura, así mismo esta sustentada por los comentarios anteriores, basado en las mediciones experimentales. Esto indica que se aceptó la hipótesis alternativa.

VI. RECOMENDACIONES

Es conveniente repetir al menos 2 experimentos extras para las condiciones de 30 minutos a 30°C, de esta manera validar la teoría de la reducción del rendimiento en cuanto a los tiempos extendidos tienden a reducir el rendimiento.

Los instrumentos de caracterización deben contar con certificados de organismos de Control de Calidad.

El diseño factorial resultó robusto, ya que con limitada cantidad de datos se obtiene amplitud de información de la variable dependiente, la cual es de suma importancia para tomar medidas de corrección, eventualmente este diseño radica para procesos de mayor escala.

Según Montgomery en las condiciones de las variables independientes alejadas de las óptimas, el modelo de primer orden representa satisfactoriamente un plano en diagrama de tres dimensiones. Y esta es la base para desarrollar las dos etapas restantes de optimización.

Buscar alternativas de diseño para el desmontaje de las partes del recipiente que contienen la mezcla, de modo que sea más eficiente y rápida, la carga y descarga de materiales. Para este diseño por ejemplo se requiere del ajuste de seis tornillos utilizando un torquímetro. Lo cual provoca que el tiempo de montaje resulte extendido, con la correspondiente pérdida de CO₂.

Por ello se recomienda la automatización del sistema de sellado del dispositivo de extracción.

Se recomienda hacer estudios de investigación en la cristalización de la estevia bajo las condiciones frescas de extracción, ya que se observa una población alta en partículas cristalinas, las cuales van consumiéndose por el líquido según transcurre un periodo corto de tiempo, menor al minuto.

Considerar que para la caracterización del producto debe elaborarse una curva de calibración utilizando estevia certificada por los proveedores en términos de calidad y pureza.

Por último se sugiere que la casa de estudios apueste mas sobre investigaciones tecnológicas, así como en incentivar a los estudiantes en la ejecución de la misma. Resaltar que es necesario del soporte de docentes para el avance de nueva investigación, la cual no debe ser necesariamente tema de tesis sino instruir desde los primeros ciclos de la carrera.

VII REFERENCIAS

Aduanas. (2017). Clasificación Arancelaria. Recuperado de <http://www.sunat.gob.pe/>

Alarcon, J., Cardona, A. C. y Jarma, O. A. (2010). Temperaturas y radiación en la producción de glucósidos en *Stevia rebaudiana* en el Caribe Húmedo colombiano. (Disertación Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2665/1/alfredodejesusjarmaorozco.2010.pdf>

Aramendiz, T. H., Jarma, O. A., Robles, G. J. (2010). Estabilidad fenotípica de genotipos y población de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) En el Caribe colombiano. (Disertación Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2665/1/alfredodejesusjarmaorozco.2010.pdf>

Ávila, A. G. y Julca, A. V. (2015). Parámetros de calidad del extracto fluido de las hojas de *stevia rebaudiana* bertoni y efecto antifúngico in vitro frente a *Candida albicans* (tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú). Recuperada de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3619>

Baca, A. et al (2017). Planeamiento Estratégico del Sector Industrial de la Caña de Azúcar en el Perú. (Tesis de maestría) Recuperado de http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/9715/BACA_CHAVEZ_PLANEAMIENTO_CA%C3%91A_AZUCAR.pdf?sequence=1

Baño, W. (2010). Estudio de edulcorante natural (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) en una bebida no carbonatada cítrica. (Tesis de grado). Recuperado de <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/868/1/AL424%20Ref.%203270.pdf>

Bebidas azucaradas: Aspec afirma que alza de ISC busca defender salud de la población. (10 de Mayo del 2018). *Andina*. Recuperado de <https://andina.pe/agencia/noticia-bebidas-azucaradas-aspec-afirma-alza-isc-busca-defender-salud-de-poblacion-709563.aspx>

Bolufer, P. (2016). Fluidos supercríticos. *Revista Técnica de Fluidos*, 1254(63), 28-31. Recuperado de <http://www.interempresas.net/Quimica/Articulos/152961-Los-fluidos-supercriticos.html>

Brunner, G. (2010). Applications of Supercritical Fluids. *Annual Review of chemical and Biomolecular Engineering*, 1 (DOI 10.1146). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22432584>

Canzi, E., et al. (2003) Metabolism of *Stevia rebaudiana* Sweeteners by Human Microflora. *Journal of agriculture and food chemistry*, 51(22). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14558786>

Carduza, F., Casablanca, F., Champredonde, M. (2016). Paneles de evaluación sensorial en la identificación y caracterización de alimentos típicos. Aprendizajes a

partir de la construcción de la IG del Salame de Colonia Caroya, Argentina. *Revista Iberoamericana de Viticultura, Agroindustria y Ruralidad*, 3(8). Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/4695/469546449003.pdf>

Carranza, G. C., Clavijo, P. J., y Jarma, O. A. (2010). Captación y uso de la radiación en plantas de *Stevia rebaudiana* Bert. En el Caribe Húmedo Colombiano. (Disertación Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2665/1/alfredodejesusjarmaorozco.2010.pdf>

Castañós, E. (2015). *Extracción con Fluidos supercríticos*. Publicado el (s.f.). Recuperado de <https://lidiacnlaquimica.wordpress.com/2015/08/19/extraccion-con-fluidos-supercriticos/>

Castello, G. (s.f). *Ficha Técnica Castevia(1.1)*. Recuperado de <https://www.tartaric.com/es/ficha-tecnica-stevia-1-1/>

Cengel, Y., Boles, M. (2012). *Termodinámica*. (7^a ed.) España, Mcgraw-Hill/Interamericana Editores. Recuperado de https://archive.org/details/TermodinamicaCengel7th_201704

Centro Tecnológico AINIA (2016). Los Fluidos Supercríticos impulsan la industria alimentaria. Publicado el (s.f). Recuperado de <http://www.ainia.es/tecnoalimentalia/tecnologia/los-fluidos-supercriticos-impulsan-la-industria-alimentaria/>

Combatt, C. E., Jarma, O. A., Polo, S. J. (2010). Contenido de glucósidos en función de deficiencias nutricionales en *Stevia rebaudiana* Bert. (Disertación Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2665/1/alfredodejesusjarmaorozco.2010.pdf>

Cortez, R. (2016). Escalado del Proceso de Extracción Supercrítica de Semillas de Chía (*Salvia hispánica* L.) (Tesis de grado, Universidad Católica de Salta, Salta, Argentina). Recuperada de http://bibliotecas.ucasal.edu.ar/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=59514

Decreto Supremo N°091-2018-EF. Diario Oficial el Peruano Lima, Perú, 9 de mayo de 2018. Recuperado de <https://busquedas.elperuano.pe/download/url/modifican-el-literal-a-del-nuevo-apendice-iv-del-texto-unico-decreto-supremo-n-091-2018-ef-1646369-2>

Delgado, A. D. (2016). Estudios de Pre Factibilidad de Exportación de Productos a Base de *Stevia* a Estados Unidos y a la Unión Europea. (Tesis de pregrado, Pontífice Universidad Católica del Perú, Lima, Perú). Recuperada de <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/7278>

Díaz, J. (2014). 4 principales variables de control de procesos, Temp, Nivel, Flujo y Presión [Diapositivas]. Mexico: Colegio de Bachilleres de Chiapas. Recuperado de

<https://pt.slideshare.net/josejoaqui/4-principales-variables-de-control-de-procesos-temp-nivel-flujo-y-presion>

Dorado, D., Hurtado, A., Martínez, H. (2017). *Extracción Supercrítica de Aceite de semillas de pabpaya (Carica papaya): Composición y Propiedades Fisicoquímicas*. (Tesis de Maestria). De la base de datos de Revista VITAE. (DOI 10.17533)

El plan con el que Chile redujo un 22% el consumo de bebidas azucaradas en cuatro años. (8 de julio del 2018). *El País*. Recuperado de https://elpais.com/internacional/2018/07/07/america/1530987086_644811.html

Entra en vigor impuesto a bebidas azucaradas en Reino Unido. (7 de Abril del 2018). Ecuavisa. Recuperado de <https://www.ecuavisa.com/articulo/noticias/internacionales/374446-entra-vigor-impuesto-bebidas-azucaradas-reino-unido>

Galarza, N. (2011). Obtención de un extracto concentrado de Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) (Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro de Perú, Junín, Perú). Recuperada de <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1214>

Giraldo E. C., Marín P. L., y Habeych N. D. (2005). Obtención de Edulcorantes de Stevia Rebaudiana Bertoni. (Tesis de Maestria). De la base de datos *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 36 Recuperado de <https://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-2005-4-CB-078.pdf>

Global Stevia Institute (2017). *Qué es la Stevia*. Recuperado de <http://globalstevia institute.com/es/consumidores/historia-de-la-stevia/que-es-la-stevia/>

Gómez, F. y Rodríguez, J. (2008) *Curso experimental en Química Orgánica*. Vallehermoso: Madrid. Editorial Síntesis. ISBN: 978-84-975655-9-2

Hinojosa, J. (2017) Extracción de glucosidos endulcorantes de stevia rebaudiana bertonii por metodos de fluidos supercriticos. 2(5). Recuperado de <http://revistas.proeditio.com/jonnpr/article/view/1390/pdf1390>

Inei. (2009). Consumo de Alimentos y Bebidas. En Perú: Consumo Per Cápita de los Principales Alimentos 2008 – 2009. Recuperado de https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1028/cap01.pdf

Inei. (2015). Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles, 2014. Recuperado de https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1212/Libro.pdf

ISC: Peruanos divididos sobre alza para bebidas azucaradas. (13 de Junio del 2018). *EL Comercio*. Recuperado de <https://elcomercio.pe/economia/isc-opinan-peruanos-mayor-pago-impuesto-selectivo-consumo-noticia-527393>

Jarma, A. (2010). Adaptación de dos Clones de Estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) En tres ambientes del Caribe Colombiano. (Disertación Doctoral, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2665/1/alfredodejesusjarmaorozco.2010.pdf>

Martínez, C. M. (2015). *Stevia rebaudiana*(Bert.) Bertoni. A reviw. *Revista Cultivos Tropicales*, 36(1), 5-15. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000500001

Lutsenko, N. (2016). Determination of the total content of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana* plant by the method of direct potentiometry (2016), *Ser Chemica Sinica*, 7(1): 9-19
Recuperado de: www.pelagiaresearchlibrary.com
ISSN: 09768505

Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio ambiente del Gobierno de España. (2016). *Calidad Agroalimentaria. Alimentación*. Recuperado de <http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/>

Niño, V. (2011). *Metodología de la Investigación Científica*. Bogotá, Colombia. Ediciones de la U. Recuperado de <http://roa.ult.edu.cu/bitstream/123456789/3243/1/METODOLOGIA%20DE%20LA%20INVESTIGACION%20DISENO%20Y%20EJECUCION.pdf>

Ostermiller, S. (2018). El convertidor de divisas. [Mensaje en blog]. Recuperado de https://es.coinmill.com/GBX_PEN.html#GBX=24

Pacheco, C. (2010) *Medición y Control de Procesos Industriales*. México D.F. Editorial Trillas.

Resolución S. G. N° 339- 2016-SG. Dirección General del Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición, Republica de Paraguay, 7 de junio de 2016. Recuperado de <http://www.snin.gov.py/reglamentos/RESOLUCI%C3%93N%20SG%20N%C2%BA%20339%20DE%202016.pdf>

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2017). *Trips oriental* (*Thrips palmi* Karny). Recuperado de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/trips-oriental-110934>

Tetra pak. (2018). Azúcar: nuevas regulaciones en la industria de bebidas. Recuperado de <http://www.envasandoideas.com/es/growth/azucar-nuevas-regulaciones-en-la-industria-de-bebidas.htm>

Valderrama, S. (2015) *Pasos para elaborar proyectos de investigación científica*. 5ta Ed. Lima: Perú. Editorial San Marcos.
ISBN: 978-612-302-878-7

Yurkanis, P. (2008). *Química Orgánica*. 5ta Ed. México. Editorial Pearson Educación.
ISBN: 978-970-26-0791-5

Zavala, M. (2011). *El Concepto de Calidad en los Alimentos I. Competitividad Agropecuaria*. Publicado junio 2011. Recuperado de http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/concepto_calidad_alimentosI.pdf

ANEXOS

A. ANEXO DE TABLAS

Tabla 5. Operacionacionalización de variables

| Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni) | | | | | | | | |
|--|--|--|------------------------------|--------------------------------|--------|---------------------|-------------------------------|--------------------|
| Variables | Definición Conceptual | Definición Operacional | Dimensión | Indicadores | Escala | Técnica | Instrumento | Escala de medición |
| Variable Independiente: Variables de control | Según Pacheco (2010), Indicó: Los procesos industriales requieren de mediciones y del control de variables físicas como temperatura, flujo, o caudal, nivel de líquidos o sólidos, densidad, presión de líquidos o gases fuerza y esfuerzo o deformaciones. (p. 16). | Las variables físicas se considerarán a las que se manipulen durante el proceso de extracción supercrítica Para obtener los mejores resultados que serán medidos por las dimensiones (temperatura, tiempo y presión) mediante fichas de recolección de datos de cada indicador, que se recolecto con el FRD-001. | Temperatura | Escala digital del sensor | Razón | Observación Directa | Ficha de recolección de datos | °C |
| | | | Tiempo | Lectura de cronometro | Razón | Observación Directa | Ficha de recolección de datos | Min. |
| | | | Presión | Lectura de manometro | Razón | Observación Directa | Ficha de recolección de datos | bar |
| Variable Dependiente: Extracción de stevia | Extracción es un método empleado para separar unos compuestos químicos de otros con los que se encuentren mezclados y disueltos en un mismo disolvente. (Rodríguez J. y Gómez F., Curso Experimental e Química Organica, 2008, p.75) | El arrastre de stevia por Dioxido de carbono es cuantificada por instrumentación química y su magnitud depende de las condiciones de operación del proceso, que se recolecto con el FRD-002 y FRD-003. | Absorvancia por ultravioleta | La inversa de la transmitancia | Razón | Observación Directa | Ficha de recolección de datos | adimensional |
| | | | Magnitud de viscosidad | Resistencia al flujo | Razón | Observación Directa | Ficha de recolección de datos | cSt |

Tabla 6. Matriz de Consistencia.

| Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni) | | | | | | | | | |
|--|---|---|--|---|--|------------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Problemas | Objetivos | Hipotesis | Variable | Definicion Conceptual | Definicion Operacional | Dimensiones | Indicadores | Escala de los indicadores | Fórmula |
| General | General | General | V A R I A B L E S F I S I C A S | Los procesos industriales requieren de mediciones y del control de variables físicas como temperatura, flujo, o caudal, nivel de líquidos o sólidos, densidad, presión de líquidos o gases fuerza y esfuerzo o deformaciones. | Las variables físicas se considerarán a las que se manipulen durante el proceso de extracción. Así mismo nos ayuden a controlar el proceso para obtener los mejores resultados, que se recolecto con el FRD-001. | Temperatura | Escala digital del sensor | Razón | 1. lectura digital del monitor (°C). |
| ¿Pueden influir la Temperatura y el tiempo en el Proceso de la Extracción de Stevia con CO2 en las condiciones cercanas a las críticas? | Determinar el efecto de la temperatura y el tiempo en la Extracción de Stevia con CO2 en condiciones cercanas a las críticas. | La Temperatura y el tiempo tienen efecto en la Extracción de Stevia con CO2 en condiciones cercanas a las críticas. | | | | Tiempo | Lectura de cronometro | Razón | Dato del Cronómetro (min.) |
| | | | | | | Presión | Lectura de manometro | Razón | Dato de Manómetro (bar). |
| Específicos | Específicos | Específicos | E X T R A C I O N D E E S T E V I A | Extracción es un método empleado para separar unos compuestos químicos de otros con los que se encuentren mezclados y disueltos en un mismo disolvente. | El arrastre de estevia por Dioxido de carbono es cuantificada por instrumentación química y su magnitud depende de las condiciones de operación del proceso, que se recolecto con el FRD-002 y FRD-003. | Absorvancia por ultravioleta | La inversa de la transmitancia | Razón | Curva de absorvancia: |
| ¿Pueden influir el tiempo en el Proceso de la Extracción de Stevia con CO2 en las condiciones cercanas a las críticas? | Determinar el efecto del tiempo en la Extracción de Stevia con CO2 en condiciones cercanas a las críticas. | El tiempo tiene efecto en la Extracción de Stevia con CO2 en condiciones cercanas a las críticas. | | | | Magnitud de viscosidad | Resistencia al flujo | Razon | Modelo radial |

B. ANEXO DE FIGURAS

Figura 9. Formato de Recolección de Datos / **FRD-001**

| | | |
|---|--|-----------------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia rebaudiana-Bertoni)" | | FRD-001 DPI-2018II |
| FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - CONTROL DE T, t y P <i>- Dispositivo de extracción para procesos no continuos -</i> | | |
| <p>Lea cuidadosamente;</p> <p>Las medidas preventivas tomadas para evitar lesiones o daños durante el manejo del dispositivo en función a la proyección de objetos, debido a la alta presión con la cual se trabaja en el dispositivo, es de manipular dicho dispositivo con un armazón de varilla de 1/4.</p> <p>Así mismo la estructura metálica en la cual esta montado dicho armazón cuenta con una base de concreto de 20 cm de alto con un tejido de varillas de metal los cuales sirven como punto para lograr la soldadura con la estructura base, también cuenta con pernos de anclaje los cuales daran mayor soporte ante posibles eventos de trabajo de alta presión.</p> <p>Frecuencia:</p> <p>Pruebas preliminares <input type="checkbox"/></p> <p>Pruebas Oficiales <input type="checkbox"/></p> <p>Pruebas Extras <input type="checkbox"/></p> | | |
| | | Año de Registro: |
| | | Fecha: |

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | Temp. | Tiempo | Presión | Observaciones |
|----|--------|-----|-------|-----------|------------|-------|--------|---------|---------------|
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |

| | |
|----------------|---------------|
| Apoyo: | |
| Elaborado por: | Aprobado por: |

Elaboración propia

Figura 10. Formato de Recolección de Datos / **FRD-002**

| | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)" | | | | | | | | FRD-002 |
| | | | | | | | | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico

- Espectofotometro -

Equipo: *Espectofotometro UV/Visible* **Modelo:** *Genesys 10S UV-VIS* **Serie:** *2L5R059149*

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la absorvancia de las muestras van a depender del enjuague que se lleve a cabo, 3 veces por muestra a analizar, de tal manera que en la celda solo exista residuos de la misma muestra a analizar.

Programar el equipo en función a la lectura máxima e intervalo de longitud de onda.

Frecuencia:

Pruebas preliminares ☐

Pruebas Oficiales ☐

Pruebas Extras ☐

Año de Registro:

Fecha:

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | Longitud de onda | Absorvancia | Observaciones |
|----|--------|-----|-------|-----------|------------|------------------|-------------|---------------|
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | |
|----------------|---------------|
| Elaborado por: | Aprobado por: |
| | |


Elaboración propia

Figura 11. Formato de Recolección de Datos / FRD-003

| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)" | | | | | | | | FRD-003 |
|---|----------------------------------|-----|-------|------------------|-----------------------|----------|---------------|-------------------|
| | | | | | | | | DPI-2018II |
| FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico | | | | | | | | |
| - Viscosímetro - | | | | | | | | |
| Equipo: | Analizador de viscosidad. | | | Modelo: | FungilabExpert | | Serie: | D07-006115 |
| Lea cuidadosamente; | | | | | | | | |
| Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la viscosidad de la muestra, va a depender de la temperatura a la cual se encuentre, para ello es necesario colocar un recipiente con agua, de tal manera de que por temperatura no influya en dicha lectura. | | | | | | | | |
| Así mismo considerar que el equipo se encuentre en un lugar estable, ya que si este no cuenta con ello puede existir por temas de calibración una lectura falso/negativo. Así como también considerar que todo equipo de precisión debe encontrarse aislado de las vibraciones. | | | | | | | | |
| Frecuencia: | | | | | | | | |
| Pruebas preliminares | <input type="checkbox"/> | | | Año de Registro: | | | | |
| Pruebas Oficiales | <input type="checkbox"/> | | | | | | | |
| Pruebas Extras | <input type="checkbox"/> | | | Fecha: | | | | |
| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | densidad | Viscosidad | Observaciones |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Elaborado por: | | | | | Aprobado por: | | | |
| | | | | | | | | |

Elaboración propia


Figura 12. Ficha técnica de Hoja de Stevia



FICHA TECNICA

NOMBRE DEL PRODUCTO: HOJA DE STEVIA DESHIDRATADA ENTERA

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|-----------------|---------|-------------|---------|----------|--------|--------|---------------|-----------|---------------|---------|--------|------------------|-----|----------|-----|-----------------|-----|-------------|----------|
| <p>INFORMACIÓN GENERAL: STEVIA ES UNA HIERBA QUE CONTIENE EN SUS HOJAS EDULCORANTES NATURALES SIN CALORÍAS; LIBRE DE AZÚCAR ALTA INTENSIDAD EDULCORANTE, NO ALERGICO, SOLUBLE EN AGUA Y ALCOHOL.</p> <p>RECOMENDACIÓN DE USO: TODO TIPO DE BEBIDAS, POSTRES, CHOCOLATES, YOGURTS, TABLETAS EDULCORANTES, SOBRES, LÍQUIDO.</p> <p>INGREDIENTES: HOJAS SECAS DE STEVIA (STEVIA REBAUDIANA BERTONI).</p> <p>CERTIFICADOS: FITOSANITARIO</p> <p>REGULACION: SENASA</p> <p>ALMACENAMIENTO Y TIEMPO DE VIDA ÚTIL: EVITAR EL CALOR Y LA LUZ EXCESIVA, AMACENAR EN CONDICIONES SECAS Y FRESCAS. MANTENER EL EMPAQUE SELLADO.</p> <p>TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE 2 AÑOS SI SE ALMACENA CORRECTAMENTE.</p> | <p>REEVALUAR EL PRODUCTO DESPUÉS DE ESTE PERIODO.</p> <p>DESCRIPCIÓN FÍSICA: COLOR: VERDE NATURAL DULCE: 30 VECES EL AZUCAR SABOR: DULCE OLOR: CARACTERISTICO PROPIO SOLUBILIDAD: SOLUBLE EN AGUA Y ALCOHOL</p> <p>ESPECIFICACIÓN DEL PRODUCTO:</p> <table border="0"> <tr><td>REBAUDIOSIDE A:</td><td>≥72,32%</td></tr> <tr><td>STEVIOSIDE:</td><td>≥27,68%</td></tr> <tr><td>CENIZAS:</td><td><9,37%</td></tr> <tr><td>PLOMO:</td><td>NO DETECTABLE</td></tr> <tr><td>ARSENICO:</td><td>NO DETECTABLE</td></tr> <tr><td>CADMIO:</td><td>≤0.300</td></tr> <tr><td>LEVADURA Y MOHO:</td><td><10</td></tr> <tr><td>E.COLI.:</td><td><10</td></tr> <tr><td>ENTEROBACTERIAS</td><td><10</td></tr> <tr><td>SALMONELLA:</td><td>AUSENCIA</td></tr> </table> <p>EMPAQUE Y ENTREGA EMPAQUE ESTANDAR: SACOS POR 10 - 20 KG O SUGERENCIA DEL CLIENTE.</p> | REBAUDIOSIDE A: | ≥72,32% | STEVIOSIDE: | ≥27,68% | CENIZAS: | <9,37% | PLOMO: | NO DETECTABLE | ARSENICO: | NO DETECTABLE | CADMIO: | ≤0.300 | LEVADURA Y MOHO: | <10 | E.COLI.: | <10 | ENTEROBACTERIAS | <10 | SALMONELLA: | AUSENCIA |
| REBAUDIOSIDE A: | ≥72,32% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| STEVIOSIDE: | ≥27,68% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CENIZAS: | <9,37% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PLOMO: | NO DETECTABLE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ARSENICO: | NO DETECTABLE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CADMIO: | ≤0.300 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LEVADURA Y MOHO: | <10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| E.COLI.: | <10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ENTEROBACTERIAS | <10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SALMONELLA: | AUSENCIA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



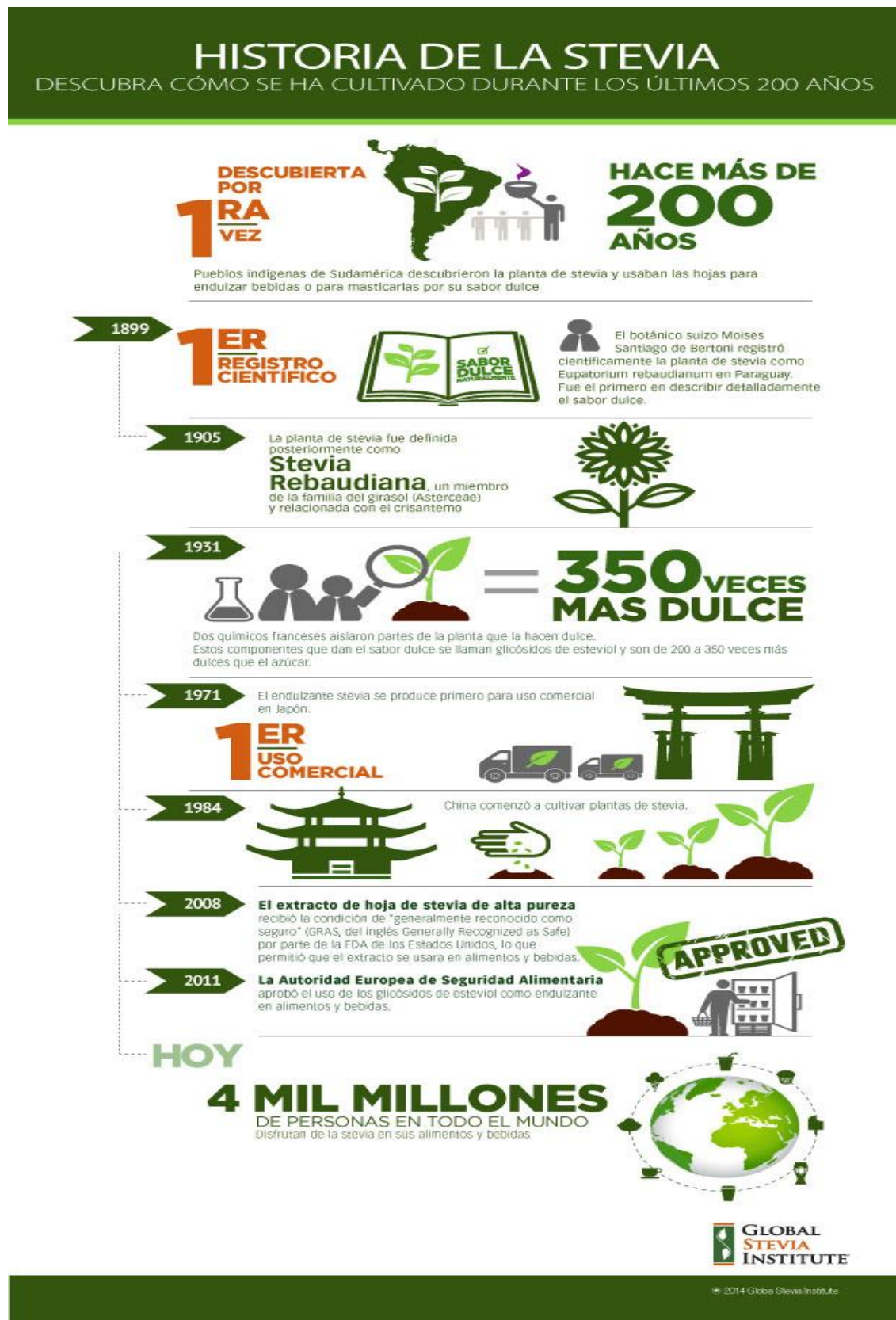
STEVIA CORONEL S.A.C.

Mz. A Lte. 23 Coo Villa Vilcabamba, Ate – Lima.

Telef.: 01 471 8490 / 945 811 431 / 942 675 071

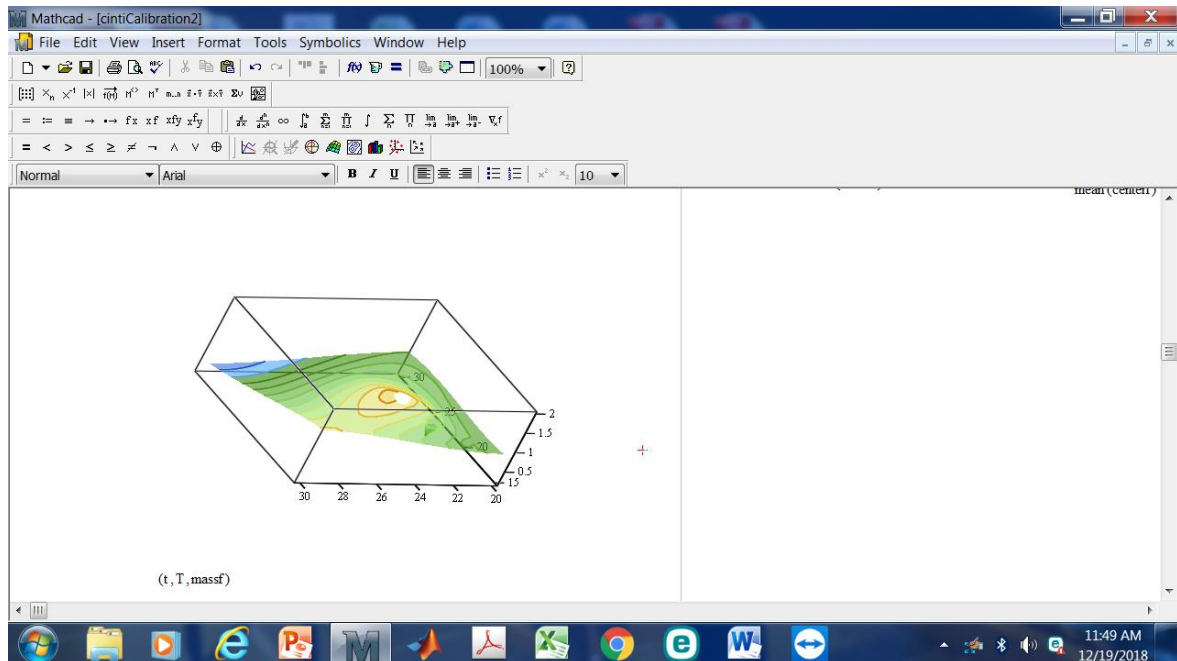
Fuente. Stevia Coronel SAC

Figura 13. Infografía, Historia de la Stevia



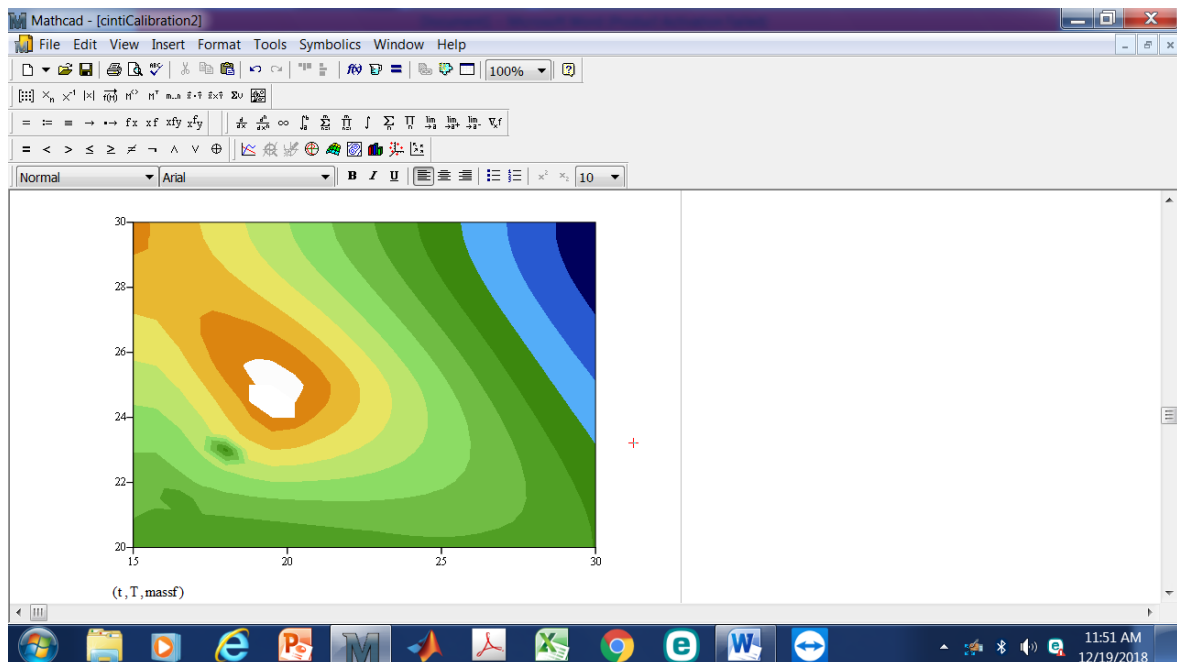
Fuente: *Global Institute Stevia*

Figura 14. Representación grafica en 3D del plano obtenido tras la lectura de las absorvancia de los experimentos en cada punto.



Elaboración propia.

Figura 15. Representación grafica en 3D del plano obtenido tras la lectura de las absorvancia de los experimentos en cada punto.



Elaboración propia.

Figura 16. Ficha técnica del VITÓN genuino

Seals Eastern, Inc.
Seals, gaskets, and o-rings
134 PEARL STREET
RED BANK, NJ 07701-0520 USA
TEL: 732 747 9200 FAX: 732 747 3647

Compound 5722A Data Sheet

Description: Genuine Viton

Physical Properties:

| ASTM Method | Property | Avg. Value | Min. Value | |
|----------------------|--|----------------------|---------------------|----------|
| D412 Method A | Tensile Strength | 1155 psi | 767 psi | |
| | Ultimate Elongation | 320% | 180% | |
| | Stress at Elongation | | | |
| | - M25 | 152 psi | 138 psi | |
| | - M50 | 214 psi | 229 psi | |
| | - M100 | 322 psi | | |
| | Strain Energy/ Unit Volume at 20% elongation | 19 psi | | |
| | Calculated Shear Modulus, G | 356 psi | | |
| | Calculated Youngs Modulus, E | 1069 psi | | |
| | E-secant from the initial slope | 1005 psi | | |
| D624, Die B | Tear Strength | 141 psi | | |
| D2240, Type A | Durometer Hardness | 62 points | 56 points | |
| D297, 15 | Specific Gravity | 1.84 | | |
| D395, Test B | Compression Set | Avg. Value | | |
| | 22 hrs @ 392F | 19% | | |
| | 70 hrs @ 392F | 23% | | |
| | 336 hrs @ 392F | 39% | | |
| D865 | Dry Heat Aging | | | |
| | Change in Tensile | Change in Elongation | Change in Durometer | |
| | 70 hrs @ 392F | 5% | 5% | 1 points |
| | 168 hrs @ 392F | 24% | 7% | 1 points |
| | 336 hrs @ 392F | 23% | 2% | 0 points |
| 1000 hrs @ 392F | 20% | -8% | 0 points | |
| D746 | Temperature Data | | | |
| | Brittle Point | F | | |
| | Temp Retraction TR-10 | F | | |
| | Glass Transition | -4F | | |
| D1329 | Max Operating Temp | 400F | | |
| | Shelf Life (years) | 15 | | |

Rev. 6/19/2002

[RETURN](#)

LEGAL NOTICE: Seals Eastern makes no representations or warranties, implied or otherwise, on the accuracy or completeness of the data herein.

Copyright 2011 Seals Eastern, Inc.

Fuente: Seals Eastern

Figura 17. Lista de Mercancías restringidas por el SENASA 2017

Clasificación Arancelaria x Clasificación Arancelaria x LISTA-DE-MERCANCÍAS-RESTRINGIDAS-POR-EL-SENASA-2017-Actualizada-en-febrero.pdf

Cintia

www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/11/LISTA-DE-MERCANCÍAS-RESTRINGIDAS-POR-EL-SENASA-2017-Actualizada-en-febrero.pdf

Personaliza y controla Google Chrome

LISTA-DE-MERCANCÍAS-RESTRINGIDAS-POR-EL-SENASA-2017-Actualizada-en-febrero.pdf

18 / 42

| | | | | | | | |
|---------------|----|--|--|---|---|--|--|
| 1212.92.00.00 | P2 | Algarrobas con algún proceso de la CRF 2 empleadas principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte. | | X | | | |
| 1212.93.00.00 | P3 | Caña de azúcar, fresca, refrigerada o seca natural empleados principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte. | | | X | | |
| 1212.93.00.00 | P2 | Caña de azúcar, con algún proceso de la CRF 2 empleados principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte. | | X | | | |
| 1212.94.00.00 | P3 | Raíces de achicoria fresca, refrigerada o seca al natural, empleadas principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte. | | | X | | |
| 1212.94.00.00 | P2 | Raíces de achicoria con algún proceso de la CRF 2, empleadas principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte. | | X | | | |
| 1212.99.10.00 | P3 | Estevia (stevia) (<i>Stevia rebaudiana</i>) frescas, refrigeradas o secas al natural, empleada principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte | | | X | | |

18

Actualizado al 7 de febrero de 2017

PERÚ

Ministerio de Agricultura y Riego

Servicio Nacional de Sanidad Agraria
SENASA

Dirección de Sanidad Vegetal

"Año del buen servicio al Ciudadano"

LISTA DE MERCANCÍAS RESTRINGIDAS POR EL SENASA 2017

| SUBPARTIDA NACIONAL | | DESCRIPCION | CATEGORIAS DE RIESGO | | | | |
|---------------------|----|--|----------------------|---|---|---|---|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1212.99.10.00 | P2 | Estevia (stevia) (<i>Stevia rebaudiana</i>) con algún proceso de la CRF 2 empleada principalmente en la alimentación humana, no expresados ni comprendidos en otra parte | | X | | | |
| | | Huesos (carozos) y almendras de frutos y demás productos vegetales | | | | | |

Fuente: MINAGRI

Figura 18. Partida arancelaria. Perú

| | | |
|-------------------------------|--|---|
| SECCION:IV | | PRODUCTOS DE LAS INDUSTRIAS ALIMENTARIAS; BEBIDAS, LIQUIDOS ALCOHOLICOS Y VINAGRE; TABACO Y SUCEDANEOS DEL TABACO, ELABORADOS |
| CAPITULO:17 | | AZÚCARES Y ARTÍCULOS DE CONFITERÍA |
| 17.01 | Azúcar de caña o de remolacha y sacarosa químicamente pura, en estado sólido. | |
| 17.01 | Azúcar de caña o de remolacha y sacarosa químicamente pura, en estado sólido. | |
| | - Azúcar en bruto sin adición de aromatizante ni colorante: | |
| 1701.12.00.00 | -- De remolacha | |
| 1701.13.00.00 | -- Azúcar de caña mencionado en la Nota 2 de subpartida de este Capítulo | |
| 1701.14.00.00 | -- Los demás azúcares de caña | |
| | - Los demás: | |
| 1701.91.00.00 | -- Con adición de aromatizante o colorante | |
| 1701.99.10.00 | -- - Sacarosa químicamente pura | |
| 1701.99.90.00 | -- - Los demás | |
| 17.02 | Los demás azúcares, incluidas la lactosa, maltosa, glucosa y fructosa (levulosa) químicamente puras, en estado sólido; jarabe de azúcar sin adición de aromatizante ni colorante; sucedáneos de la miel, incluso mezclados con miel natural; azú | |
| | - Lactosa y jarabe de lactosa: | |
| 1702.11.00.00 | -- Con un contenido de lactosa superior o igual al 99% en peso, expresado en lactosa anhidra, calculado sobre producto seco | |
| 1702.19 | -- Los demás: | |
| 1702.19.10.00 | -- - Lactosa | |
| 1702.19.20.00 | -- - Jarabe de lactosa | |
| 1702.20.00.00 | - Azúcar y jarabe de arce («maple») | |
| 1702.30 | - Glucosa y jarabe de glucosa, sin fructosa o con un contenido de fructosa, en estado seco, inferior al 20% en peso: | |
| 1702.30.10.00 | -- Con un contenido de glucosa superior o igual al 99% en peso, expresado en glucosa anhidra, calculado sobre producto seco (Dextrosa) | |
| 1702.30.20.00 | -- Jarabe de glucosa | |
| 1702.30.90.00 | -- Las demás | |
| 1702.40 | - Glucosa y jarabe de glucosa, con un contenido de fructosa, en estado seco, superior o igual al 20% pero inferior al 50%, en peso: | |
| 1702.40.10.00 | -- Glucosa | |
| 1702.40.20.00 | -- Jarabe de glucosa | |

Fuente: Aduanas

Figura 19. Partida Arancelaria de la Estevia. Perú

| SECCIÓN:II | | PRODUCTOS DEL REINO VEGETAL |
|-------------------------------|--|--|
| CAPITULO:12 | | SEMILLAS Y FRUTOS OLEAGINOSOS; SEMILLAS Y FRUTOS DIVERSOS; PLANTAS INDUSTRIALES O MEDICINALES; PAJA Y FORRAJE |
| 12.11 | | Plantas, partes de plantas, semillas y frutos de las especies utilizadas principalmente en perfumería, medicina o para usos insecticidas, parasitícidias o similares, frescos o secos, incluso cortados, quebrantados o pulverizados. |
| 12.11 | | Plantas, partes de plantas, semillas y frutos de las especies utilizadas principalmente en perfumería, medicina o para usos insecticidas, parasitícidias o similares, frescos o secos, incluso cortados, quebrantados o pulverizados. |
| 1211.20.00.10 | | - - Refrigerados, congelados |
| 1211.20.00.90 | | - - Los demás |
| 1211.30.00.00 | | - Hojas de coca |
| 1211.40.00.00 | | - Paja de adormidera |
| 1211.50.00.00 | | - Efedra |
| 1211.90 | | - Los demás: |
| 1211.90.30.00 | | - - Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) |
| 1211.90.50.00 | | - - Uña de gato (<i>Uncaria tomentosa</i>) |
| 1211.90.60.00 | | - - Hierbaluisa (<i>Cymbopogon citratus</i>) |
| 1211.90.90.40 | | - - - Piretro (<i>Pelitre</i>) |
| 1211.90.90.91 | | - - - - Refrigerados, congelados |
| 1211.90.90.99 | | - - - - Los demás |
| 12.12 | | Algarrobas, algas, remolacha azucarera y caña de azúcar, frescas, refrigeradas, congeladas o secas, incluso pulverizadas; huesos (carozos) y almendras de frutos y demás productos vegetales (incluidas las raíces de achicoria sin tostar de la |
| 1212.21.00.00 | | - - Aptas para la alimentación humana |
| 1212.29.00.00 | | - - Las demás |
| | | - Los demás: |
| 1212.91.00.00 | | - - Remolacha azucarera |
| 1212.92.00.00 | | - - Algarrobas |
| 1212.93.00.00 | | - - Caña de azúcar |
| 1212.94.00.00 | | - - Raíces de achicoria |
| 1212.99.10.00 | | - - - Estevia (<i>stevia</i>) (<i>Stevia rebaudiana</i>) |
| 1212.99.90.00 | | - - - Los demás |
| 12.13 | | Paja cascabillo de cereales, en bruto, incluso picados, molidos, prensados o en "pellets". |
| 1213.00.00.00 | | Paja y cascabillo de cereales, en bruto, incluso picados, molidos, prensados o en «pellets» |
| 12.14 | | Nabos forrajeros, remolachas forrajeras, raíces forrajeras, heno, alfalfa, trébol, esparceta, coles forrajeras, altramuces, vezas y productos forrajeros similares, incluso en "pellets" |

Fuente: Aduanas

Figura 20. Índice de consumo por azúcar. Perú



Fuente: Diario Comercio

Figura 21. Muestra extraída y centrifugada, en tubo de 0.5 mL



Fuente: Elaboración propia

Figura 22. Muestra extraída presencia de cristales de estevia.



Fuente: Elaboración propia

Figura 23. Hoja de Estevia en empaque de 500 g. Stevia Coronel SAC.



Fuente: Elaboración propia

Figura 24. Muestra M_3 (250 mL), Viscosímetro, Lab. Biotecnología, UCV – Lima Este.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 25. Pesado de estevia(cristales), en Balanza Analítica.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 26. Preparación de estandar de estevia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 27. Preparación de estandar de estevia.



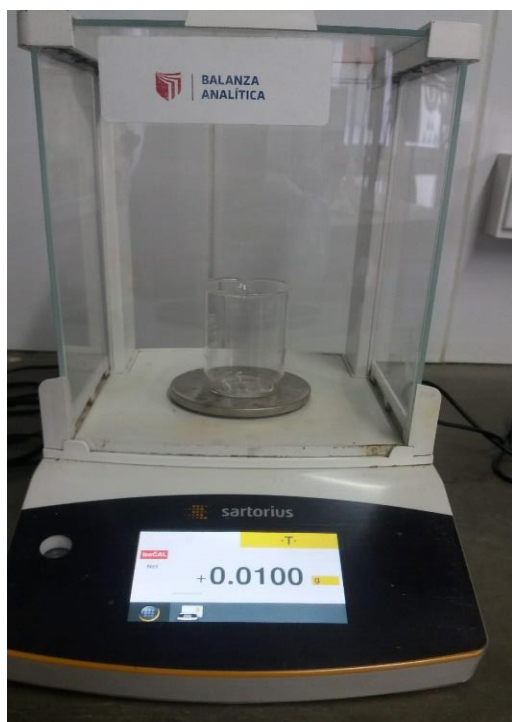
Fuente: Elaboración propia.

Figura 28. Orden y limpieza de materiales utilizados durante la laboración del estándar de estevia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 29. Pesado de Estevia (cristales), en Balanza Analítica



Fuente: Elaboración propia.

Figura 30. Elaboración del estandar de estevia a 300°C y 300rpm en agitador electromagnético.



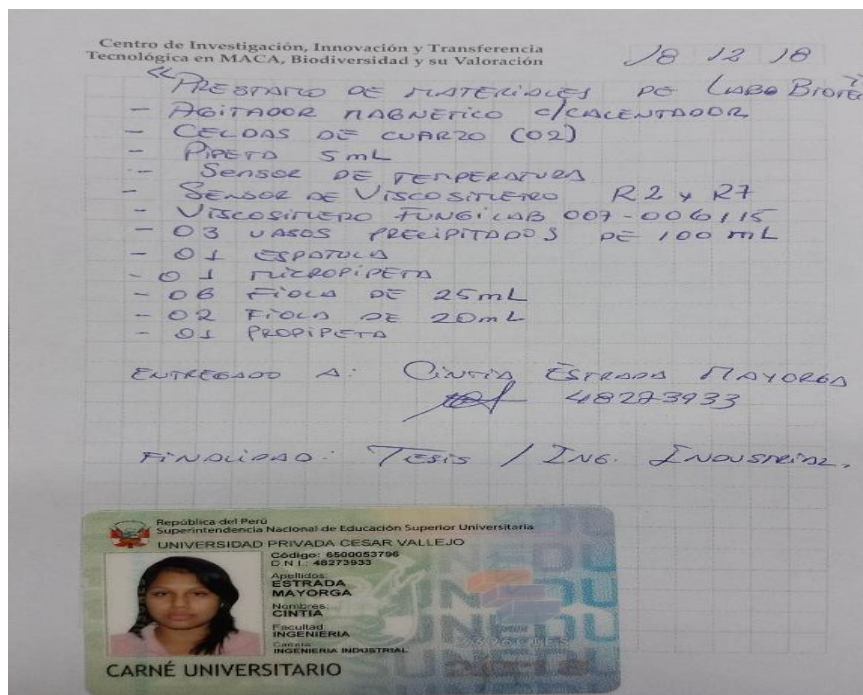
Fuente: Elaboración propia

Figura 31. Pesado de hoja de estevia tras el proceso de extracción, el cual incia en 20 g y se estabiliza a los 13.46g.



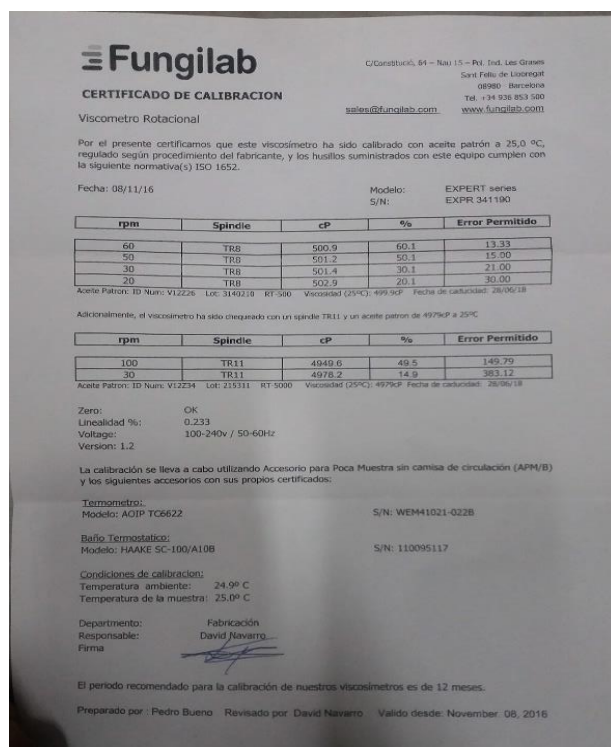
Fuente: Elaboración propia.

Figura 32. Lista de materiales solicitados en laboratorio para el uso del espectrofotómetro, viscosímetro y preparación del estandar de estevia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 33. Hoja de registro de calibración de viscosímetro.



Fuente: Laboratorio de Biotecnología.

Figura 34. Pesado de hojas de estevia, habilitado de materiales antes de colocar en el dispositivo de extracción.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 35. Pesado de hojas de estevia, tras proceso de extracción en el dispositivo.



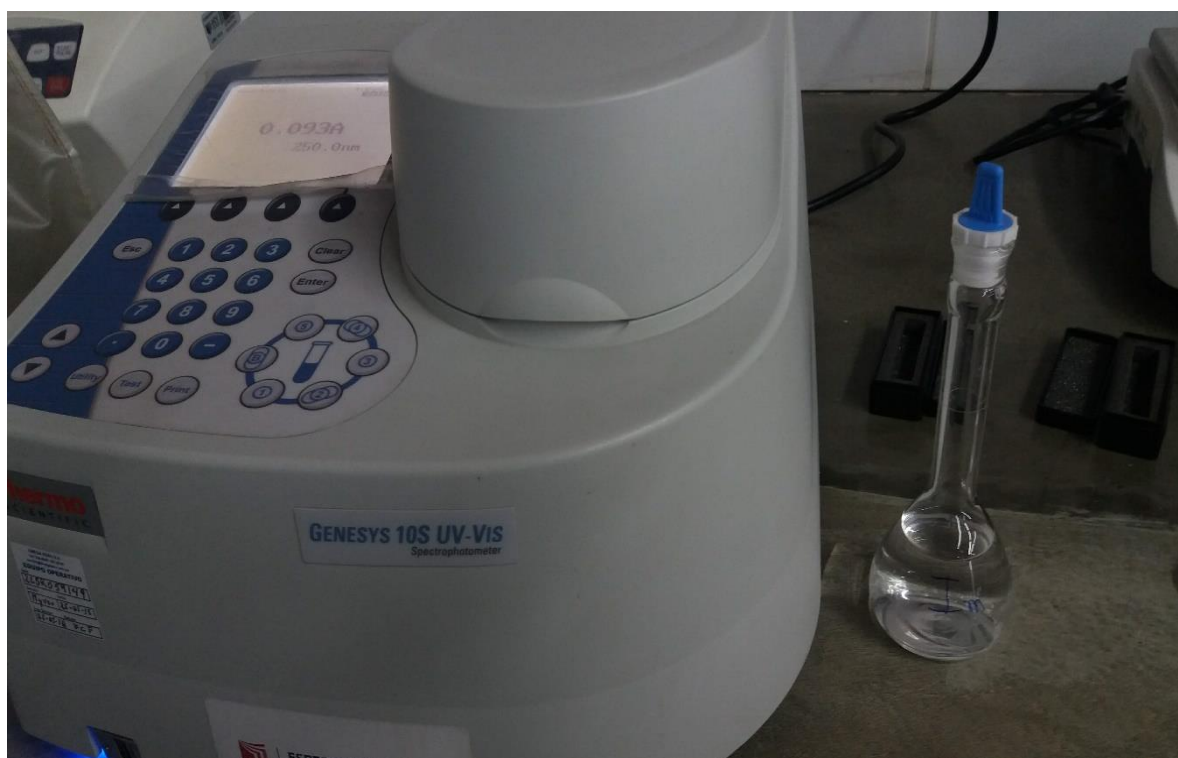
Fuente: Elaboración propia

Figura 36. Hojas de estevia dentro del dispositivo de extracción.



Fuente: Elaboración propia

Figura 37. Acondicionado del Espectrofotómetro antes de realizar el análisis de absorbancia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 38. Presencia de cristales de estevia .



Fuente: Elaboración propia

Figura 39. Dispositivo de extracción durante proceso.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 40. Interior de espectrofotómetro.



Fuente: Elaboración propia

Figura 41. Sensor de temperatura, del dispositivo de extracción.



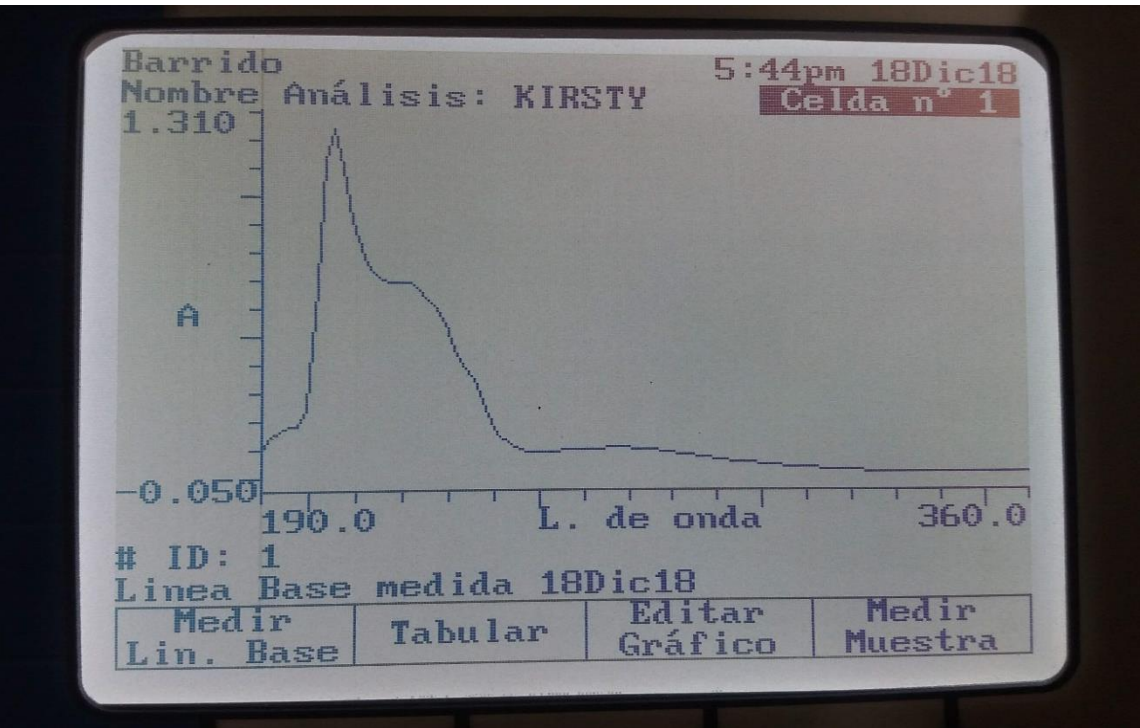
Fuente: Elaboración propia

Figura 42. Dispositivo de extracción



Fuente: Elaboración propia

Figura 43. Caracterización gráfica de la estevia.



Fuente: Espectrofotómetro UV- VIS, Lab. Biotecnología.

C. ANEXO DE INSTRUMENTOS

Instrumento 1. Ficha de recolección de datos, Lectura de espectrofotómetro de muestras preliminares en experimentos del punto centro del diseño experimental.

| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertonii)" | | | | | | | | FRD-002 DPI-2018II |
|--|------------------|----------|-------|-----------|------------|------------------|-------------|------------------------------|
| FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico | | | | | | | | |
| Equipo: Espectrofotometro UV/Visible Modelo: Genesys 10S UV-VIS Serie: 2L5R059149 Lea cuidadosamente; Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la absorvancia de las muestras van a depender del enjuague que se lleve a cabo, 3 veces por muestra a analizar, de tal manera que en la celda solo exista residuos de la misma muestra a analizar. Programar el equipo en función a la lectura máxima e intervalo de longitud de onda. | | | | | | | | |
| Frecuencia: Pruebas preliminares <input checked="" type="checkbox"/> Año de Registro: 2018-II Pruebas Oficiales <input type="checkbox"/> Pruebas Extras <input type="checkbox"/> Fecha: 18-12-2018 | | | | | | | | |
| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Terminó | Longitud de onda | Absorvancia | Observaciones |
| MB | Carla Estrada M. | 4883933 | | 2:00pm | 2:18pm | 218nm | 0.100a | Se tomó 100µl de la muestra. |
| MA | Carla Estrada M. | 48273933 | | 2:20pm | 2:40pm | 218nm | 0.177a | Se tomó 100µl de la muestra. |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | |
|--|--|
| Elaborado por: <u>Carla Estrada M.</u> | Aprobado por: <u>Alejandro Suarez Ing. Ambiental</u> |
|--|--|

Nota: Considerar que la cantidad en µL tomada para la lectura en el espectrofotómetro se llevó a un flíster de 25 µL con etanol absoluto (curroc)

Fuente: Elaboración propia

Instrumento 2. Recolección de datos, Curva de calibración de la estevia.

| | |
|---|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia rebaudiana-Bertonii)" | FRD-002 |
| | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico

- Espectofotometro -

Equipo: Espectofotometro UV/Visible

Modelo: Genesys 10S UV-VIS

Serie: 2L5R059149

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la absorbancia de las muestras van a depender del enjuague que se lleve a cabo, 3 veces por muestra a analizar, de tal manera que en la celda solo exista residuos de la misma muestra a analizar.

Programar el equipo en función a la lectura máxima e intervalo de longitud de onda.

Frecuencia:

Pruebas preliminares



Pruebas Oficiales



Pruebas Extras



Año de Registro: 2018-11

Fecha: 18-12-2018

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | Longitud de onda | Absorbancia | Observaciones |
|----|--------------------|----------|-------|-----------|------------|------------------|-------------|---|
| 01 | Cecilia Estrada M. | 48273933 | | 3:00pm | 3:15pm | 218nm | 0.558a | Enrase en fiola de 200mL - muestra directa. |
| 02 | Cecilia Estrada M. | 48273933 | | 3:20pm | 3:35pm | 218nm | 0.289a | Enrase en fiola de 25mL - Se tomó 12.5 mL |
| 03 | Cecilia Estrada M. | 48273933 | | 3:40pm | 3:55pm | 218nm | 0.147a | Enrase en fiola de 25mL - Se tomó 6.20 mL |
| 04 | Cecilia Estrada M. | 48273933 | | 3:58pm | 4:15pm | 218nm | 0.076a | Enrase en fiola 25mL - Se tomó 3.10mL |
| 05 | Cecilia Estrada M. | 48273933 | | 3:57pm | 4:15pm | 218nm | 0.043a | Enrase en fiola 25mL - Se tomó 1.5mL |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | |
|-----------------------------------|--|
| Elaborado por: Cecilia Estrada M. | Aprobado por: Ing. Ambiental Alejandra Jerez |
|-----------------------------------|--|

Nota: Se desarrolló las pruebas preliminares para fijar la curva de Calibración de la Stevia.

Fuente: Elaboración propia.

Instrumento 3. Ficha de recolección de datos de la absorbancia de las muestras extraídas y repetición de la muestra M₃, con 25µL de la muestra en 25mL de Etanol.

| | | |
|--|--|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO ₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)" | | FRD-002 |
| FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico | | DPI-2018II |

Equipo: Espectrofotometro UV/Visible

Modelo: Genesys 10S UV-VIS

Serie: 2LSR059149

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la absorbancia de las muestras van a depender del enjuague que se lleve a cabo, 3 veces por muestra a analizar, de tal manera que en la celda solo exista residuos de la misma muestra a analizar.

Programar el equipo en función a la lectura máxima e intervalo de longitud de onda.

Frecuencia:

Pruebas preliminares ☐

Pruebas Oficiales ☒

Pruebas Extras ☐

Año de Registro: 2018-11

Fecha: 18-12-2018

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | Longitud de onda | Absorvancia | Observaciones |
|-----------------|--------------------|----------|-------|-----------|------------|------------------|-------------|------------------------------|
| m ₁₂ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 4:30 pm | 4:50 pm | 218 nm | 0.204 a | Se tomó 100 µL de la muestra |
| m ₂ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 5:00 pm | 5:15 pm | 218 nm | 0.166 a | " |
| m ₃ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 5:20 pm | 5:45 pm | 218 nm | 1.435 a | " |
| m ₁₃ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 5:48 pm | 6:00 pm | 218 nm | 0.144 a | " |
| m ₆ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 6:03 pm | 6:18 pm | 218 nm | 0.184 a | " |
| m ₇ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 6:20 pm | 6:35 pm | 218 nm | 0.193 a | " |
| m ₅ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 6:40 pm | 6:55 pm | 218 nm | 0.323 a | " |
| m ₁₀ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 6:58 pm | 7:15 pm | 218 nm | 0.153 a | " |
| m ₁₁ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 7:18 pm | 7:35 pm | 218 nm | 0.241 a | " |
| m ₃ | Centro Estrada Fl. | 48273933 | | 8:00 pm | 8:15 pm | 218 nm | 0.491 a | Se tomó 25 µL de la muestra. |

| | |
|-----------------------------------|---|
| Elaborado por: Centro Estrada Fl. | Aprobado por: Alejandro Suarez Ing. Ambiental de la |
|-----------------------------------|---|

Nota: Considerar que la cantidad en µL tomada para la lectura en el espectrofotometro se llevó a una flaca de 25 mL. en etanol abs. (curac)

Fuente: Elaboración propia

Instrumento 4. Ficha de recolección de datos de la absorbancia de muestras extraídas a condiciones extras, muestras analizadas con la misma longitud de onda.

| | |
|--|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)" | FRD-002 |
| | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico

- Espectrofotometro -

Equipo: Espectrofotometro UV/Visible

Modelo: Genesys 10S UV-VIS

Serie: 2LSR059149

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la absorbancia de las muestras van a depender del enjuague que se lleve a cabo, 3 veces por muestra a analizar, de tal manera que en la celda solo exista residuos de la misma muestra a analizar.

Programar el equipo en función a la lectura máxima e intervalo de longitud de onda.

Frecuencia:

Pruebas preliminares ☐

Pruebas Oficiales ☐

Pruebas Extras ☒

Año de Registro: 2018-II

Fecha: 18.12.2018

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | Longitud de onda | Absorvancia | Observaciones |
|----|---------------------|----------|---------|-----------|------------|------------------|-------------|------------------------------|
| m1 | Citrato Estadao 07. | 48273933 | [Firma] | 8:20pm | 8:40pm | 218nm | 0.206a | Se tomó 100µL de la muestra. |
| m4 | Citrato Estadao 07. | 48273933 | [Firma] | 8:45pm | 9:00pm | 218nm | 2.873a | Se tomó 100µL de la muestra. |
| m4 | Citrato Estadao 07. | 48273933 | [Firma] | 9:05pm | 9:25pm | 218nm | 0.428a | Se tomó 20µL de la muestra. |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | |
|--|---|
| Elaborado por: Citra Estadao 07. [Firma] | Aprobado por: Ing. Ambiental Alejandro Ruiz [Firma] |
|--|---|

Nota: Considerar que la cantidad en µL tomada de la lectura en el espectrofotometro se llevó a una flauta de 25 mL. con etanol abs. (curace)

Fuente: Elaboración propia.

Instrumento 5. Ficha de recolección de datos, extracción de estevia en muestras preliminares con la repetición del punto centro del diseño experimental.

| | |
|---|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia rebaudiana-Bertonii)" | FRD-001 |
| | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - CONTROL DE T, t y P

- Dispositivo de extracción para procesos no continuos -

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lesiones o daños durante el manejo del dispositivo en función a la proyección de objetos, debido a la alta presión con la cual se trabaja en el dispositivo, es de manipular dicho dispositivo con un armazón de varilla de 1/4.

Así mismo la estructura metálica en la cual esta montado dicho armazón cuenta con una base de concreto de 20 cm de alto con un tejido de varillas de metal los cuales sirven como punto para lograr la soldadura con la estructura base, también cuenta con pernos de anclaje los cuales daran mayor soporte ante posibles eventos de trabajo de alta presión.

Frecuencia:

Pruebas preliminares ☐

| | |
|-------------------|--------------------------|
| Pruebas Oficiales | <input type="checkbox"/> |
|-------------------|--------------------------|


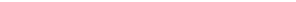
Pruebas Extras

Año de Registro: 2018-II

Fecha: 24-11-2018

[illegible]

Απογο:

| | |
|--|--|
| Elaborado por: | Aprobado por: |
| Gustavo Estrada D.T.  | Ing. Ambiental Alejandro Serrano  |

Fuente: Elaboración propia.

Instrumento 6. Extracción de estevia, Muestras preliminares.

| | |
|---|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia rebaudiana-Bertonii)" | FRD-001 |
| | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - CONTROL DE T, t y P

- Dispositivo de extracción para procesos no continuos -

Lea cuidadosamente:

Las medidas preventivas tomadas para evitar lesiones o daños durante el manejo del dispositivo en función a la proyección de objetos, debido a la alta presión con la cual se trabaja en el dispositivo, es de manipular dicho dispositivo con un armazón de varilla de 1/4.

Así mismo la estructura metálica en la cual esta montado dicho armazón cuenta con una base de concreto de 20 cm de alto con un tejido de varillas de metal los cuales sirven como punto para lograr la soldadura con la estructura base, también cuenta con pernos de anclaje los cuales daran mayor soporte ante posibles eventos de trabajo de alta presión.

Frecuencia:



Año de Registro: 2018-II

Fecha: 10-noviembre-2018

[illegible]

Apoyo: Ing. Silyandro Suarez Alvarado

... Long ...

Aprobado por:

Exp. Ambicutele pleurole d'avec l'hi

Nota: ^{150 ml.} tomar en cuenta que para el proceso se uso cosolvente: Etanol absoluto.

Fuente: Elaboración propia.

Instrumento 7. Ficha de recolección de datos de la extracción de estevia de acuerdo al diseño de experimento, según el diseño factorial 2^k compuesto. Con 9 muestras (2 muestras de nivel máximo, 2 muestras de nivel mínimo y 5 muestras del punto centro del diseño).

| | |
|--|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO ₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia rebaudiana-Bertoni)" | FRD-001 |
| | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - CONTROL DE T, t y P

- Dispositivo de extracción para procesos no continuos -

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lesiones o daños durante el manejo del dispositivo en función a la proyección de objetos, debido a la alta presión con la cual se trabaja en el dispositivo, es de manipular dicho dispositivo con un armazón de varilla de 1/4.

Así mismo la estructura metálica en la cual está montado dicho armazón cuenta con una base de concreto de 20 cm de alto con un tejido de varillas de metal los cuales sirven como punto para lograr la soldadura con la estructura base, también cuenta con pernos de anclaje los cuales darán mayor soporte ante posibles eventos de trabajo de alta presión.

Frecuencia:

Pruebas preliminares ☐

Pruebas Oficiales ☒

Pruebas Extras ☐

Año de Registro: 2018 - noviembre

Fecha: 17-11-2018

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Terminó | Temp. | Tiempo | Presión | Observaciones |
|-----------------|-------------------|----------|---------|-----------|------------|-------|--------|---------|---|
| m ₂ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 6:00am | 7:00am | 20°C | 15' | 39 br | Se pesó 10.9 g de Stevia y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₂ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 7:05am | 8:00am | 20°C | 30' | 43 br | Se pesó 10.9 g de Stevia y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₃ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 8:05am | 9:00am | 30°C | 30' | 40 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₁₃ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 9:10am | 10:00am | 20°C | 15' | 39 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₆ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 10:05am | 11:00am | 25°C | 20' | 47 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₇ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 11:00am | 12:00pm | 25°C | 20' | 43 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₅ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 12:00pm | 01:00pm | 25°C | 20' | 43 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₁₀ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 14:00 | 14:50 | 25°C | 20' | 47 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |
| m ₁₁ | Contra Estrada O. | 48273933 | [Firma] | 15:00 | 16:00 | 25°C | 20' | 44 br | Se pesó 10.9 g de Stevia (haga) y 78g CO ₂ (nieto) |

Apoyo:

| | |
|---------------------------|---------------------------------------|
| Elaborado por: | Aprobado por: |
| Contra Estrada O. [Firma] | Ing. Ambiental Alejandra Lima [Firma] |

Nota: Tener en cuenta que para las pruebas oficiales se usó el solvente: Etanol absoluto (150 mL).

Fuente: Elaboración propia.

Instrumento 8. Ficha de recolección de datos, Análisis de la viscosidad de la muestra M₃.

| | | |
|--|--|------------|
| "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)" | | FRD-003 |
| | | DPI-2018II |

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS - Análisis Físico-Químico

Equipo: Analizador de viscosidad. **Modelo:** FungilabExpert **Serie:** D07-006115

Lea cuidadosamente;

Las medidas preventivas tomadas para evitar lecturas dudosas de la viscosidad de la muestra, va a depender de la temperatura a la cual se encuentre, para ello es necesario colocar un recipiente con agua, de tal manera de que por temperatura no influya en dicha lectura.

Asi mismo considerar que el equipo se encuentre en un lugar estable, ya que si este no cuenta con ello puede existir por temas de calibración una lectura falso/negativo. Asi como también considerar que todo equipo de presición debe encontrarse aislado de las vibraciones.

Frecuencia:

Pruebas preliminares

Pruebas Oficiales

Pruebas Extras



Año de Registro: 2018-11

Fecha: 18-12-2018

| Nº | Nombre | DNI | Firma | H. Inicio | H. Termino | densidad | Viscosidad | Observaciones |
|----------------|-----------|----------|---------|-----------|------------|----------|------------|--|
| M ₃ | Guillermo | 48233933 | [Firma] | 8:30pm | 9:00pm | 0.792cc | 128cSt | Se obtuvo la densidad con muestra de (250 mL). |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | |
|---------------------------------|--|
| Elaborado por: <u>Guillermo</u> | Aprobado por: <u>Alexander Luna, Ing. Probicitud</u> |
|---------------------------------|--|

Nota: Considerar que el equipo es nuevo por lo tanto el valor obtenido en la densidad es aceptable.

Fuente: Elaboración propia

D. CALCULOS

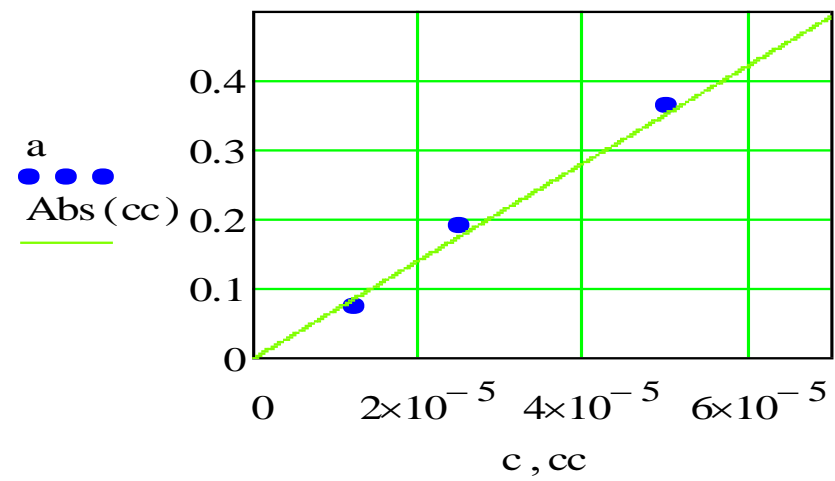
1. Curva de Calibración y cálculos intermedios:

$$\underset{\text{m}}{\text{c}} := \begin{pmatrix} 1.000 \\ 0.500 \\ 0.250 \\ 0.125 \end{pmatrix} \cdot (1 \times 10^{-4}) \qquad \text{a} := \begin{pmatrix} 0.700 \\ 0.363 \\ 0.189 \\ 0.072 \end{pmatrix}$$

$$\text{intercep}(\text{c}, \text{a}) = 8.696 \times 10^{-5}$$

$$\text{slope}(\text{c}, \text{a}) = 7.059 \times 10^3$$

$$\text{Abs}(\text{c1}) := 8.696 \times 10^{-5} + 7.059 \times 10^3 \cdot \text{c1}$$



2. Cálculo de las concentraciones de las muestras a partir de la absorbancia:

$$cc(Abs) := \frac{Abs - 8.696 \times 10^{-5}}{7.059 \times 10^3}$$

$$CCf := \begin{pmatrix} 0.011 \\ 6.125 \times 10^{-3} \\ 3.3 \times 10^{-3} \\ 6.797 \times 10^{-3} \\ 9.843 \times 10^{-3} \\ 9.453 \times 10^{-3} \\ 0.011 \\ 0.021 \\ 8.71 \times 10^{-3} \end{pmatrix}$$

3. Cálculos de concentración de la muestra₃ (30, 30)

Evaporado 70 mL

$$Vf := 30 \cdot mL \quad C3030 := 3.3 \times 10^{-3} \quad ab3030 := 0.303 \quad \begin{matrix} 25\mu L & A & 25mL \\ 100\mu L & A & 25mL \end{matrix}$$

$$\frac{0.303 - 8.696 \times 10^{-5}}{7.059 \times 10^3} = 4.291 \times 10^{-5}$$

$$ccf := \frac{25 \cdot cci}{100 \cdot 10^{-3}} \quad ccf = \begin{pmatrix} 0.011 \\ 6.125 \times 10^{-3} \\ 0.011 \\ 6.797 \times 10^{-3} \\ 9.843 \times 10^{-3} \\ 9.453 \times 10^{-3} \\ 0.011 \\ 0.021 \\ 8.71 \times 10^{-3} \end{pmatrix} \quad CCf := \begin{pmatrix} 0.011 \\ 6.125 \times 10^{-3} \\ 3.3 \times 10^{-3} \\ 6.797 \times 10^{-3} \\ 9.843 \times 10^{-3} \\ 9.453 \times 10^{-3} \\ 0.011 \\ 0.021 \\ 8.71 \times 10^{-3} \end{pmatrix}$$

No- corregido (30, 30)

Corregido (30,30)

Datos de temperatura, tiempo y absorbancia:

| | | |
|--------|--------|----------|
| $T :=$ | $t :=$ | $Abs :=$ |
| 30 | 15 | 0.302 |
| 20 | 30 | 0.173 |
| 30 | 30 | 0.303 |
| 20 | 15 | 0.192 |
| 25 | 20 | 0.278 |
| 25 | 20 | 0.267 |
| 25 | 20 | 0.319 |
| 25 | 20 | 0.592 |
| 25 | 20 | 0.246 |

4. Resumen de los datos obtenidos.

| Extracción de hoja de estevia | | Consideramos como Patrón | | | |
|-------------------------------|----------------|--------------------------|-----------|----|---------|
| 150 mL | etanol abs. | Patrón | 1000 mg/L | UV | 0.558 a |
| 10.9 g | hoja de Stevia | | | | |
| 78 g | hielo seco | | | | |

De la muestra extraída

se tomó de la muestra extraída una vez más para diluir aquellos que pasaron de la absorbancia del patrón:

| muestra | tiempo | Temperatura | Presión | microlitros | enrace | absorbancia | microlitros | enrace | absorbancia |
|---------|--------|-------------|---------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|-------------|
| m12 | 15 | 30 | 39 | 100 | 25 | 0.204 | - | 25 | 0.204 |
| m2 | 30 | 20 | 43 | 100 | 25 | 0.166 | - | 25 | 0.166 |
| m3 | 30 | 30 | 40 | 100 | 25 | 1.435 | 25 | 25 | 0.491 |
| m13 | 15 | 20 | 39 | 100 | 25 | 0.144 | - | 25 | 0.144 |
| m6 | 20 | 25 | 47 | 100 | 25 | 0.184 | - | 25 | 0.184 |
| m7 | 20 | 25 | 48 | 100 | 25 | 0.193 | - | 25 | 0.193 |
| m5 | 20 | 25 | 43 | 100 | 25 | 0.323 | - | 25 | 0.323 |
| m10 | 20 | 25 | 47 | 100 | 25 | 0.153 | - | 25 | 0.153 |
| m11 | 20 | 25 | 44 | 100 | 25 | 0.241 | - | 25 | 0.241 |

Extras

De la muestra extraída

se tomó de la muestra extraída una vez más para diluir aquellos que pasaron de la absorbancia del patrón:

| muestra | tiempo | Temperatura | Presión | microlitros | enrace | absorbancia | microlitros | enrace | absorbancia |
|---------|--------|-------------|---------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|-------------|
| m8 | 20 | 25 | 40 | 100 | 25 | 0.100 | - | - | - |
| m9 | 20 | 25 | 40 | 100 | 25 | 0.177 | - | - | - |

| | |
|-------------------------------|----------------|
| Extracción de hoja de estevia | |
| 100 mL | etanol abs. |
| 10.9 g | hoja de Stevia |
| 78 g | hielo seco |

se tomó de la muestra extraída una vez más para diluir aquellos que pasaron de la absorbancia del patrón:

De la muestra extraída

| muestra | tiempo | Temperatura | Presión | microlitros | enrace | absorbancia | microlitros | enrace | absorbancia |
|---------|--------|-------------|---------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|-------------|
| m1 | 30 | 30 | 40 | 100 | 25 | 0.206 | - | - | - |

| | |
|-------------------------------|----------------|
| Extracción de hoja de estevia | |
| 50 mL | etanol abs. |
| 10.9 g | hoja de Stevia |
| 78 g | hielo seco |

se tomó de la muestra extraída una vez más para diluir aquellos que pasaron de la absorbancia del patrón:

De la muestra extraída

| muestra | tiempo | Temperatura | Presión | microlitros | enrace | absorbancia | microlitros | enrace | absorbancia |
|---------|--------|-------------|---------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|-------------|
| m4 | 30 | 30 | 58 | 100 | 25 | 2.873 | 20 | 25 | 0.428 |

Yo, **Javier Francisco Panta Salazar**, docente de la Facultad de Ingeniería y carrera Profesional de Ingeniería Industrial de la Universidad César Vallejo campus Lima Este, revisor (a) de la tesis titulada:

"Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO2 cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertonii)", de la estudiante Estrada Mayorga Cinthia, constato que la investigación tiene un índice de similitud de **diecisiete** % verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito(a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

San Juan de Lurigancho, 23 de Julio del 2019



Dr. Javier Francisco Panta Salazar

DNI: 02636381

| | | | |
|---|--------|---|--|
|  | |  |  |
| Director de Investigación | Revisó | Revisor (a) con DNI | Revisor (a) de Investigación |



**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE
TESIS EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL
UCV**

Código : F08-PP-PR-02.02
Versión : 09
Fecha : 23-03-2018
Página : 1 de 1

Yo Cintia Estrada Mayorga, identificado con DNI N° 48273933, egresada(a) de la Carrera Profesional de Ingeniería Industrial de la Universidad César Vallejo, Autorizo (X), No autorizo () la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado "Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)": en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art. 33

Fundamentación en caso de no autorización:

Cintia Estrada Mayorga

DNI: 48273933

Fecha: 23/07/2019



| | | | | | |
|--------|----------------------------|--------|------------------|------------------|------------------|
| Estado | Dirección de Investigación | Revisó | Revisado por DGC | Revisado por DGC | Revisado por DGC |
|--------|----------------------------|--------|------------------|------------------|------------------|





UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE LA CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA INDUSTRIAL

Mg. Óscar Francisco Alvarado Rodríguez

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

Cintia Estrada Mayorga

INFORME TITULADO:

"Primera fase de Optimización de Variables de control del solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la Extracción de Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertoni)"

PARA OBTENER EL TÍTULO O GRADO DE:

Ingeniera Industrial

SUSTENTADO EN FECHA : 20/12/2018.

NOTA O MENCIÓN: 18 (dieciocho)



Mg. Óscar Francisco Alvarado Rodríguez

Feedback Studio - Google Chrome
 https://es.tumitin.com/app/carta/es/?lang=es&doc=1062854911&ss=1&w=1154323710

feedback studio tesis de Estrada Mayorga

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
INDUSTRIAL

Primera fase de Optimización de Variables de control del
 solvente-CO₂ cercanas a sus condiciones críticas en la
 Extracción de *Stevia (Stevia-rebaudiana-Bertonii)*

Tesis para optar el título Profesional de:
 Ingeniero Industrial

Autor:
 Cintia Estrada Mayorga

Asesor:
 Dr. Javier Francisco Panto
 Salazar

Resumen de coincidencias

17 %

| 1 | www.gira.es | 2 % |
|---|--------------------------|-----|
| 2 | www.bdigital.unel.edu... | 2 % |
| 3 | diccionario.sensagent... | 1 % |
| 4 | Daniela J. DORADO, An... | 1 % |
| 5 | repositorio.uco.edu.pe | 1 % |
| 6 | www.redalyc.org | 1 % |
| 7 | globalsteviaathute.co... | 1 % |
| 8 | repositorio.uncp.edu.pe | 1 % |

Página: 1 de 43 Número de palabras: 9555

Text-only Report Turnitin Classic High Resolution Activado

tesis de Núñez Ma...pdf

23-07-2019

Mostrar todo

07:37 23/07/2019

